



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA ZOOTÉCNICA

“ESTUDIO DE LA SELECCIÓN ESPERMÁTICA EN EL TRACTO
GENITAL DE LA HEMBRA BASADO EN LA MORFOMETRÍA DEL
ESPERMATOZOIDE PORCINO”

TRABAJO DE TITULACIÓN

Previa la obtención del título de:

INGENIERO ZOOTECNISTA

AUTOR:

WELLINGTON FERNANDO YÁNEZ QUINTANA

Riobamba – Ecuador

2015

Este Trabajo de Titulación fue aprobado por el siguiente Tribunal

Ing.MC. Fredy Bladimir Proaño Ortiz.

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Dr. Nelson Antonio Duchi Duchi, Ph.D.

DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Ing. MC. Edgar Washington Hernández Cevallos.

ASESOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Riobamba, 30 de Noviembre del 2015.

AGRADECIMIENTO

Durante estos años son muchas las personas e instituciones que han participado en este trabajo y a quienes quiero expresar mi gratitud por el apoyo y la confianza que me han prestado de forma desinteresada.

A mi familia en especial a mis padres Mariana y Wilson, y a mis hermanos que me han ayudado a llevar a cabo este proyecto, gracias por aguantarme en los momentos de más presión, que han sido muchos, por apoyarme y darme ánimos para poder realizar esta Tesis.

A Miryam Alexandra por su paciencia y comprensión por estar ahí animándome desde un principio hasta el día de hoy.

A mis compañeros de carrera durante todos estos años, por su inestimable y continua colaboración.

Un especial agradecimiento al Dr. Nelson Duchi Duchi. Ph.D, por haberme brindado la oportunidad de realizar este trabajo gracias a su gestión vincularía con la Universidad de Murcia. Por su apoyo, confianza y formación científica recibida durante el desarrollo de la investigación.

Al Departamento de Fisiología de la Universidad de Murcia por su apoyo no sólo científico sino humano, mi agradecimiento más sincero a mis directores Dr. Salvador Ruiz. Ph.D y Dr. Francisco García. Ph.D lo que siempre resulta digno de agradecer.

A todos ellos, muchas gracias.

DEDICATORIA

Esta investigación está dedicada al sector científico, direccionado a la reproducción y mejoramiento productivo de las especies zootécnicas, ya que este es parte del futuro de la producción animal.

CONTENIDO

	Pág.
Resumen	v
Abstract	vi
Lista de Cuadros	vii
Lista de Gráficos	ix
Lista de Anexos	xi
I. <u>INTRODUCCIÓN</u>	1
II. <u>REVISIÓN DE LITERATURA</u>	4
A. EVALUACIÓN DE LA CALIDAD SEMINAL EN EL VERRACO	4
1. <u>El espermatozoide</u>	4
2. <u>Evaluación de la aptitud reproductiva del verraco</u>	5
3. <u>El examen clínico</u>	5
4. <u>Principales características seminales del verraco</u>	6
a. Volumen	6
b. pH	7
c. Motilidad espermática	7
d. Concentración espermática	8
e. Morfología	8
f. Integridad del acrosoma	9
g. Reacción hipoosmótica	9
5. <u>Factores que influyen sobre la calidad seminal</u>	9
a. Edad	10
b. Nutrición	10
c. Raza	10
d. Ritmo de colección	11
e. Estación	11
B. MORFOLOGÍA DEL ESPERMATOZOIDE	12
1. <u>Características</u>	12
2. <u>Estructuras del espermatozoide</u>	14
a. La cabeza del espermatozoide	14
b. La pieza media o cuello	15
c. El flagelo del espermatozoide	16

3. <u>Sistemas de la valoración morfología espermática</u>	17
a. Turbidimetría	18
b. Velocimetría Laser-Doppler	18
c. Fotomicrografía de tiempo-exposición	18
d. Fotomicrografía de exposición múltiple	19
e. Microcinematografía	19
f. Videocinematografía	19
4. <u>Anormalidades morfológicas</u>	20
C. MORFOMETRÍA DE LOS ESPERMATOZOIDES	21
1. <u>Evaluación de la morfometría de la cabeza espermática</u>	22
2. <u>Morfometría de la cabeza espermática y su relación con la fertilidad</u>	22
3. <u>Resultados del estudio de la morfometría</u>	23
D. INSEMINACIÓN ARTIFICIAL	26
1. <u>Características e importancia</u>	26
2. <u>Ventajas de la inseminación artificial</u>	27
a. Ventajas zootécnicas	27
b. Ventajas sanitarias	27
c. Ventajas de manejo	28
3- <u>Desventajas de la inseminación artificial</u>	28
E. TIPOS DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL	28
1. <u>Inseminación cervical o estándar (SAI)</u>	30
a. Procedimiento	30
2- <u>Inseminación post-cervical</u>	31
a- Ventajas	32
b. Procedimiento	32
3. <u>Inseminación intrauterina</u>	34
a. Ventajas	36
b. Desventajas	36
F. REFLUJO EN LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL	37
III. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	38
A. LOCALIZACIÓN Y DURACIÓN DEL EXPERIMENTO	38
B. UNIDADES EXPERIMENTALES	38
C. MATERIALES, EQUIPOS E INSTALACIONES	38
1. <u>Materiales</u>	38

2. <u>Equipos</u>	39
3. <u>Instalaciones</u>	39
4. <u>Software</u>	40
D. TRATAMIENTOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL	40
E. MEDICIONES EXPERIMENTALES	41
F. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS Y PRUEBA DE SIGNIFICANCIA	42
G. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL	43
H. METODOLOGÍA DE EVALUACIÓN	45
IV. <u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	46
A. MORFOMETRÍA DE LOS ESPERMATOZOIDES DE DIFERENTES REPRODUCTORES	46
1. <u>Longitud de la cabeza, μm</u>	46
2. <u>Ancho de la cabeza, μm</u>	48
3. <u>Área de la cabeza, μm^2</u>	49
4. <u>Perímetro de la cabeza, μm</u>	50
5. <u>Elipticidad de la cabeza</u>	51
6. <u>Rugosidad de la cabeza</u>	52
7. <u>Elongación de la cabeza</u>	53
8. <u>Regularidad de la cabeza</u>	54
9. <u>Largo de la cola, μm</u>	55
B. MORFOMETRÍA DE LOS ESPERMATOZOIDES DE ACUERDO AL TIPO DE INSEMINACIÓN	56
C. MORFOMETRÍA DE LOS ESPERMATOZOIDES EN LOS REFLUJOS A DIFERENTES TIEMPOS.	59
1. <u>Longitud de la cabeza, μm</u>	60
2. <u>Ancho de la cabeza, μm</u>	60
3. <u>Área de la cabeza, μm^2</u>	63
4. <u>Perímetro de la cabeza, μm</u>	63
5. <u>Elipticidad de la cabeza</u>	64
6. <u>Rugosidad de la cabeza</u>	65
7. <u>Elongación de la cabeza, μm</u>	66
8. <u>Regularidad de la cabeza</u>	67
9. <u>Largo de la cola, μm</u>	67

V. <u>CONCLUSIONES</u>	70
VI. <u>RECOMENDACIONES</u>	71
VII. <u>LITERATURA CITADA</u>	72
ANEXOS	

RESUMEN

En la Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, España, se evaluó la morfometría de los espermatozoides presentes en los reflujos de cerdas después de aplicarse inseminación artificial, teniendo como factores de estudio los cerdos empleados (5 animales), el tipo de inseminación (cervical y post-cervical), y los tiempos en que se recolectó los reflujos (0 a 15, 16 a 30 y 31 a 60 minutos). Además, se analizaron muestras de lavados de diferentes tramos del aparato reproductor femenino (útero, oviductos y unión útero-tubárica, del lado derecho e izquierdo) obtenidas por cirugía de cerdas inseminadas artificialmente 24 horas antes, por lo que las muestras fueron distribuidas bajo un diseño completamente al azar con desigual número de repeticiones: Los resultados obtenidos determinan que la morfometría de los espermatozoides sufrieron cambios estadísticos por efecto de los reproductores evaluados, según los tipos de inseminación (cervical y post-cervical), se encontraron diferencias altamente significativas con las respuestas más altas los espermatozoides recolectados tras la inseminación post-cervical, de igual manera el tiempo de recolección influyó por cuanto las medidas morfométricas se reducen con respecto a la dosis original, obteniendo los siguientes resultados de las cabezas de los espermatozoides del semen fresco y los recolectados entre 31 y 60 minutos: longitud 9,18 y 8,98 μm , ancho 4,42 vs 4,27 μm , área 34,53 a 32,86 μm^2 y perímetro de 24,65 a 24,13 μm , respectivamente. Las mayores longitudes de las colas fueron en las dosis originales (46,84 μm), a diferencia de los recolectados del lavado uterino (45,65 μm).

ABSTRACT

In the Faculty of Veterinary Medicine, University of Murcia, Spain, the morphometry of the spermatozoa was evaluated in the ebbs of bristles after artificial insemination implementation, having as factors studies employees pigs (5 animals), type of insemination (cervical and post-cervical), and the time when the waters recede (0-15, 16-30 and 31-60 minutes) was collected. In addition, samples from washes of different sections of the female reproductive tract (uterus, fallopian tubes and utero-tubal, left and right side) obtained after surgery sows artificially inseminated 24 hours before analyzed, so that the samples were distributed under a completely randomized design with unequal number of repetitions: The results determined that sperm morphometry statistical changes suffered as a result of the players tested, by type of insemination (post-cervical and cervical), highly significant differences were found top answers sperm collected after post-cervical insemination, equally influenced collection time because morphometric measurements are reduced with respect to the original dose, with the following results of the sperm heads of fresh semen and collected between 31 and 60 minutes, 9,18 and 8,98 microns length, width 4,42 vs 4,27 microns, 34,53 to 32,86 um area and perimeter² 24,65 to 24,13 microns, respectively. Older queue lengths were in the original dose (46,84 microns), unlike the uterine lavage collected (45,65 microns).

LISTA DE CUADROS

Nº		Pág.
1.	CARACTERÍSTICAS SEMINALES DE REPRODUCTORES PORCINOS.	6
2.	CARACTERÍSTICAS GENERALES Y MORFOMÉTRICAS DE LOS ESPERMATOZOIDES DE SEMEN DE VERRACO.	24
3.	CARACTERÍSTICAS MORFOMÉTRICAS DE LOS ESPERMATOZOIDES DE CERDOS COMPARANDO EL SEMEN RECIÉN COLECTADO VERSUS EL SEMEN REFRIGERADO A 16°C POR 24 HORAS.	25
4.	CARACTERÍSTICAS DE LA INSEMINACIÓN CERVICAL (SAI), POST CERVICAL (PCAI) E INTRAUTERINA (DUI).	29
5.	NÚMERO DE ESPERMATOZOIDES ANALIZADOS DE ACUERDO AL FACTOR DE ESTUDIO.	38
6.	ESQUEMA DEL EXPERIMENTO PARA LA EVALUACIÓN DE LA MORFOMETRÍA DE LA CABEZA DE LOS ESPERMATOZOIDES.	41
7.	ESQUEMA DEL EXPERIMENTO PARA LA EVALUACIÓN DE LARGO DE LA COLA LOS ESPERMATOZOIDES.	41
8.	ESQUEMA DEL ADEVA DE ACUERDO A LOS REPRODUCTORES.	42
9.	ESQUEMA DEL ADEVA DE ACUERDO AL TIPO DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL.	42
10.	ESQUEMA DEL ADEVA SEGÚN LOS REFLUJOS A DIFERENTES TIEMPOS.	43
11.	ESQUEMA DEL ADEVA SEGÚN LOS REFLUJOS A DIFERENTES TIEMPOS Y EN VARIAS SECCIONES DEL APARATO REPRODUCTOR FEMENINO (PARA EL LARGO DE COLA).	43
12.	COMPARACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS MORFOMETRÍA DE ESPERMATOZOIDES DE DIFERENTES REPRODUCTORES OBTENIDOS EN REFLUJOS A DIFERENTES TIEMPOS, DE LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL (CERVICAL VS. POST-CERVICAL).	47
13.	CARACTERÍSTICAS DE LA MORFOMETRÍA DE ESPERMATOZOIDES OBTENIDOS EN REFLUJOS A	

	DIFERENTES TIEMPOS, POR EFECTO DEL TIPO DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL (CERVICAL VS. POST-CERVICAL).	57
14.	MORFOMETRÍA DE ESPERMATOZOIDES OBTENIDOS EN REFLUJOS A DIFERENTES TIEMPOS DESPUÉS DE LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL (CERVICAL VS. POST-CERVICAL).	61
15.	LARGO DE LA COLA DE ESPERMATOZOIDES OBTENIDOS EN REFLUJOS A DIFERENTES TIEMPOS Y EN VARIAS SECCIONES DEL APARATO REPRODUCTOR FEMENINO, DESPUÉS DE LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL (CERVICAL VS. POST-CERVICAL).	68

LISTA DE GRÁFICOS

Nº		Pág.
1.	Longitud de la cabeza (μm), de los espermatozoides de diferentes reproductores porcinos.	48
2.	Ancho de la cabeza (μm), de los espermatozoides de diferentes reproductores porcinos.	49
3.	Área de la cabeza (μm), de los espermatozoides de diferentes reproductores porcinos.	50
4.	Perímetro de la cabeza (μm), de los espermatozoides de diferentes reproductores porcinos.	51
5.	Elipticidad (forma) de la cabeza, de los espermatozoides de diferentes reproductores porcinos.	52
6.	Rugosidad de la cabeza, de los espermatozoides de diferentes reproductores porcinos.	53
7.	Elongación de la cabeza, de los espermatozoides de diferentes reproductores porcinos.	54
8.	Regularidad de la cabeza, de los espermatozoides de diferentes reproductores porcinos.	55
9.	Largo de la cola (μm), de los espermatozoides de diferentes reproductores porcinos.	56
10.	Características morfométricas de los espermatozoides porcinos por efecto de la aplicación de inseminación artificial cervical y post-cervical.	59
11.	Longitud de la cabeza (μm), de los espermatozoides por efecto de la recolección en diferentes tiempos del reflujo post inseminación.	62
12.	Ancho de la cabeza (μm), de los espermatozoides por efecto de la recolección en diferentes tiempos del reflujo post inseminación.	62
13.	Área de la cabeza (μm^2), de los espermatozoides por efecto de la recolección en diferentes tiempos del reflujo post inseminación.	63
14.	Perímetro de la cabeza (μm), de los espermatozoides por efecto de la recolección en diferentes tiempos del reflujo post inseminación.	64
15.	Elipticidad de la cabeza de los espermatozoides por efecto de la recolección en diferentes tiempos del reflujo post inseminación.	65

16. Rugosidad de la cabeza de los espermatozoides por efecto de la recolección en diferentes tiempos del reflujo post inseminación. 65
17. Elongación de la cabeza de los espermatozoides por efecto de la recolección en diferentes tiempos del reflujo post inseminación. 66
18. Regularidad de la cabeza de los espermatozoides por efecto de la recolección en diferentes tiempos del reflujo post inseminación. 67
19. Longitud de cola (μm), de los espermatozoides por efecto de la recolección en diferentes tiempos del reflujo post inseminación y de los lavados de diferentes tramos del aparato reproductor femenino. 69

LISTA DE ANEXOS

Nº

1. Resultados experimentales de la valoración morfométrica de la cabeza y la longitud de cola de los espermatozoides de cerdos obtenidos en reflujos a diferentes tiempos y en varias secciones del aparato reproductor femenino, después de la inseminación artificial (cervical vs. post-cervical).
2. Análisis estadísticos de las características morfométricas de las cabezas de los espermatozoides de diferentes reproductores.
3. Análisis estadísticos de las características morfométricas de las cabezas de los espermatozoides obtenidos en reflujos a diferentes tiempos, por efecto del tipo de inseminación artificial. Anexo 4. Análisis estadísticos de las características morfométricas de las cabezas de los espermatozoides obtenidos en reflujos a diferentes tiempos después de la inseminación artificial (cervical vs. post-cervical).
5. Análisis estadísticos de la longitud de la cola de los espermatozoides obtenidos en reflujos a diferentes tiempos y en varias secciones del aparato reproductor femenino, después de la inseminación artificial (cervical vs. post-cervical).

I. INTRODUCCIÓN

El desarrollo de la producción porcina moderna resulta imposible sin la utilización de la Inseminación Artificial, ya que esta permite incrementar la calidad genética de la población porcina, pues el número de cerdas que pueden ser cubiertas por el mismo macho es de 8 a 10 veces superior que en la monta natural, se reduce el riesgo de transmisión de enfermedades infecto-contagiosas, además, no se necesita alta calificación técnica para realizar la inseminación, la misma ofrece ventajas sanitarias y se logra más cantidad de cerdos por puerca al año reduciendo los costos, <http://www.fao.org>. (2015).

Pero a pesar de esto, se sabe que la fertilidad en mamíferos está ligada a la morfometría de los espermatozoides, y la presencia de espermatozoides anómalos se ha asociado con una baja fertilidad in vitro. De ahí que el estudio de la morfología es un componente importante en la evaluación de la calidad seminal, indicando del status fisiológico o patológico de la producción espermática además de que es un método seguro y económico de monitorizar las funciones del testículo, epidídimo y glándulas anejas, Humeco, J. (2014).

En el “Manual de laboratorio para el análisis seminal” de la Organización Mundial de la Salud World Health Organization. (1999), se recomienda llevar a cabo la evaluación del porcentaje de espermatozoides con morfología normal puesto que, se ha demostrado que las muestras con una alta proporción de espermatozoides anormales presentan una baja fertilidad.

De este modo, se ha puesto de manifiesto que existe una clara asociación entre la estructura y la función en un espermatozoide. Por lo tanto, la evaluación de la morfología espermática debería emplearse como una de las principales herramientas para valorar la fertilidad de una muestra de semen, Auger, J. (2010).

Para la evaluación de la morfometría se analizan las imágenes de los espermatozoides capturados una vez fijados y teñidos sobre un portaobjetos. Con las imágenes obtenidas se pueden analizar diferentes partes del espermatozoide

(cabeza, pieza intermedia y flagelo). Así, estos sistemas proporcionan información individualizada de características de la célula más precisas, como el área y el perímetro de la cabeza del espermatozoide, el diámetro de la pieza intermedia y la longitud del flagelo, entre otros. La información obtenida a nivel individual con estos sistemas puede ser analizada posteriormente empleando métodos estadísticos para obtener una información más precisa de las características del eyaculado. Estos sistemas han sido utilizados para estudiar diferencias con respecto a la morfometría del espermatozoide entre machos e incluso entre especies, Hirai, M. et al. (2001).

La inseminación artificial consiste en la aplicación de dosis seminales en el aparato reproductivo de la hembra con el fin de obtener la mayor tasa de fecundación. Dicha inseminación puede ser cervical (tradicional), post cervical (IAPC), ó intrauterina profunda (IAIUP). En la tradicional la dosis se deposita en los primeros centímetros del cérvix, mientras que en la post cervical y en la intrauterina profunda se deposita en el útero, atravesando el cérvix mediante el uso de una sonda complementaria a la tradicional que deposita los espermatozoides, bien en el cuerpo del útero (post cervical), bien en el comienzo del cuerno uterino (intrauterina profunda), pero por la particular anatomía del aparato reproductor de la cerda, que actúa como una barrera natural a través de sus criptas dificulta la llegada del semen al útero y facilita la expulsión de una gran parte de los espermatozoides mediante el reflujo, De Alba, C. (2011).

En base a esta característica, el presente estudio se orientó a la valoración de la morfometría de los espermatozoides obtenidos de los reflujos a diferentes tiempos, después de la inseminación artificial cervical y post-cervical, para establecer si el tracto genital de la hembra podría actuar como un órgano encargado de seleccionar aquellos espermatozoides con unas características determinadas basadas en su diseño (morfometría).

Por lo anotado, en el presente trabajo se plantearon los siguientes objetivos:

- Estudiar la selección espermática en el útero de la cerda basado en la morfometría del espermatozoide.

- Evaluar la morfometría (cabeza y cola), de los espermatozoides obtenidos en los reflujos a tiempos de 0 a 15 min, 16 a 30 min y 31 a 60 min, después de la inseminación artificial de las hembras (cervical vs. post-cervical).
- Evaluar la morfometría de la cola (longitud), en espermatozoides recolectados en diferentes secciones del aparato reproductor femenino (porción craneal del útero, unión útero-tubárica y oviducto), tras la inseminación artificial.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

A. EVALUACIÓN DE LA CALIDAD SEMINAL EN EL VERRACO

1. El espermatozoide

El espermatozoide es el producto final del proceso de la gametogénesis en el macho. Se trata de una célula haploide, es decir, que tiene la mitad de cromosomas que una célula somática y es la portadora de la información genética paterna. Las células germinales masculinas, a diferencia de las femeninas, tan solo comienzan a reducir el número diploide de cromosomas al comenzar la pubertad y una vez iniciados los procesos de división y diferenciación se mantienen de forma cíclica durante toda la vida adulta, Amann, R. y Schanbacher, B. (1983).

Los gametos masculinos o espermatozoides se forman en los túbulos seminíferos de los testículos. Su formación comprende un proceso cíclico que va desde una serie compleja de células germinales en desarrollo, hasta finalmente un conjunto de células terminales alargadas consistentes en una cabeza aplanada portadora del núcleo y un flagelo que contiene el aparato necesario para la motilidad celular, Chenoweth, P. (1997).

Este producto final, derivado de procesos de desarrollo complejos, no puede experimentar posteriores divisiones o diferenciación, por lo que resulta único entre las células en su forma y función, Hafez, B. (2003).

El rol principal de esta célula terminal es el transporte de un paquete, constituido por el genoma nuclear y el centríolo, hasta el oocito, Rodríguez, H. (2000).

La variación en la calidad seminal del verraco es multifactorial. Está relacionada con la edad, línea genética, frecuencia de colección, estado nutricional y de salud de los reproductores, estimulación sexual antes de la colecta y la estación del año. Estos factores influyen de manera directa e indirecta en las principales

características seminales, como el volumen del eyaculado, pH, concentración espermática, motilidad, funcionalidad de la membrana celular, integridad del acrosoma y presencia de espermatozoides anormales, Velásquez, C. (2013).

2. Evaluación de la aptitud reproductiva del verraco

El examen andrológico debe tomar siempre en cuenta la influencia de varios factores, como la edad, la estación, el nivel nutricional, la presencia de enfermedades intercurrentes, el manejo, las interacciones sociales y otros factores ambientales que puedan afectar su fertilidad. Su aptitud reproductiva depende primariamente de su salud general y su bienestar, y -específicamente- de la función de su sistema endocrino y de sus testículos, su tracto genital y sus glándulas sexuales accesorias, todo lo cual incide en la eficiencia de su capacidad de servicio. Cada una de estas funciones puede cambiar en forma continua, dependiente o independientemente entre sí, pasando de ser muy buena a muy mala en el tiempo, afectando la fertilidad en grado variable. La evaluación de la aptitud reproductiva persigue un sólo propósito; llegar a un diagnóstico que permita pronosticar el uso del reproductor o de su semen. La evaluación se compone del examen clínico del reproductor, incluyendo su capacidad para servir hembras, así como de la calidad de su semen y, en última instancia, del análisis de su fertilidad, probada mediante registros apropiados, Rodríguez, H. (2012).

3. El examen clínico

El examen clínico debe ser siempre iniciado por una identificación sólida del reproductor (raza, edad, tatuaje, número identificador, registro, etc.), así como la recolección de una historia clínica lo más completa posible, que incluya datos de manejo, historia nutricional, enfermedades o afecciones previas, uso previo como reproductor (incluyendo anotaciones de comportamiento y resultados de fertilidad). El verraco debe inspeccionarse en el reposo y en movimiento, prestando atención especial al sistema locomotor músculo-esquelético, con énfasis en la conformación de los miembros posteriores (aplomos). El examen clínico general se remite a la inspección, palpación y auscultación somera de los distintos sistemas, con especial atención a los órganos de los sentidos

(particularmente vista y olfato). Cuando exista sospecha de afección, el examen se hace más intensivo y específico. El examen físico andrológico debe incluir la inspección del prepucio y pene (durante la colección de semen), la inspección y la palpación del escroto y su contenido (incluyendo la mensura del ancho del escroto, la mensura testicular y los hallazgos palpatorios en epidídimo y testículo; en éste último describiendo la elasticidad y la resistencia del órgano a la palpación superficial y profunda, respectivamente). Los exámenes paraclínicos de hormonas (LH, FSH, testosterona), no han resultado de valor para la evaluación rutinaria de los verracos, pero pueden usarse en casos especiales, Rodríguez, H. (2012).

4. Principales características seminales del verraco

Las principales características seminales del verraco se reportan en el cuadro, (cuadro 1).

Cuadro 1. CARACTERÍSTICAS SEMINALES DE REPRODUCTORES PORCINOS.

Características	N° animales	Media
Volumen total (mL)	244	290,1
Volumen libre (mL)	264	146,9
pH	277	7,6
Movilidad individual (%)	277	94,1
Calidad del movimiento (%)	277	4,2
Concentración (x10 ³ /mm ³)	273	615,4
Espermatozoides normales (%)	260	77,9
Anormalidades de cabeza (%)	258	2,6
Anormalidades de pieza media (%)	259	16,6
Anormalidades de pieza principal (%)	260	2,8
Acrosomas normales (%)	260	88,1

Fuente: Henao, G. et al, (2004).

a. Volumen

El eyaculado total promedio del verraco es de 250 mL, con un rango que varía

entre 50 a 400 mL. La gran variación del volumen seminal se explica por el tamaño de las glándulas seminales y bulbouretrales y al grado de estimulación sexual alcanzado antes de la colecta; y, también es consecuencia de los diversos factores que influyen en el verraco y que afectan de manera directa o indirecta la producción del eyaculado, como: La edad, raza, frecuencia de colecta, estado nutricional, momento de la colecta, estado de salud y, los agentes estresantes, Frunza, I. et al. (2008).

b. pH

Los cambios en el pH seminal afectan la viabilidad y motilidad espermática. Los bajos o elevados niveles de la secreción de las glándulas sexuales accesorias son determinantes para que el pH del semen tenga una reacción alcalina ó más ácida, King, G. and Macpherson, J. (2005).

El semen con un pH elevado, por encima de 8, es indicador de un eyaculado de baja calidad ó que el verraco tiene un proceso infeccioso en el tracto genital. Las variaciones de pH entre eyaculados de un mismo reproductor puede ser generado por el pH del epidídimo, que es ácido, entre 5,9 a 6,9, originado por la permanencia de los espermatozoides en estado de anabiosis e inamovilidad, Frunza, I. et al. (2008).

c. Motilidad espermática

La evaluación de este parámetro determina la proporción de espermatozoides móviles y de movimiento progresivo. La movilidad individual es una de las características más indicadoras de la capacidad fecundante *in vivo* de una muestra de semen y se correlaciona positivamente con la fertilidad en porcinos, Tardiff, S. (1999).

La motilidad y viabilidad de los espermatozoides depende de una secreción equilibrada y proporcional de la vesícula seminal y próstata. Los fluidos de la vesícula seminal contienen factores que tienen un efecto negativo sobre la motilidad espermática. Mientras, que la secreción de la próstata contiene factores

que estimulan la motilidad y al entrar en contacto con los espermatozoides lo protegen de los efectos negativos de la secreción de la vesícula seminal, Mortimer, S. (2000).

El movimiento normal de los espermatozoides es rectilíneo, en una sola dirección, progresivo y con movimientos rápidos de la cola. Los eyaculados con estas características son los más fértiles y para ser considerados de calidad, el 80% de los espermatozoides deben tener un movimiento progresivo, Frunza, I. et al. (2008).

Los espermatozoides presentan también movimientos anormales, de rotación, vibración y retroceso, Vyt, P. (2007), la observación de estas anomalías se relacionan con una menor fertilidad, Broekhuijse, M. et al. (2012).

d. Concentración espermática

El eyaculado del verraco se caracteriza por tener baja concentración, que excepcionalmente no pasa de los 500,000 espermatozoides/mm³ de semen. Esta característica es indicador de una buena capacidad productora de gametos en los túbulos seminíferos y aunque no está relacionada directamente con la fertilidad, afecta la tasa de dilución seminal y el número de dosis procesables de un eyaculado, Tardiff, S. (1999).

La concentración espermática es una característica muy variable entre individuos. Está relacionada con la edad, el ambiente social y la estación. La raza es otro factor que influye en el número de espermatozoides del eyaculado, como lo demostró, Arias, D. (2000), quienes encontraron en una evaluación realizada en verracos de razas comerciales en Cuba, concentraciones espermáticas en rango que osciló entre 261,000 a 328,000 espermatozoides/mm³.

e. Morfología

Las anomalías espermáticas son consecuencia de patologías genitales en los verracos. Los resultados de las pruebas para determinar estas anomalías no

muestran relación con la fertilidad pero permiten identificar reproductores con semen de baja calidad, que luego se podrían descartar como donantes en programas de inseminación artificial, Rodríguez, H. (2000).

El porcentaje máximo de anormalidades primarias y secundarias permitido es de 10 y 20%, respectivamente. El porcentaje de espermatozoides normales debe estar por encima del 70%, Vyt, P. (2007).

f. Integridad del acrosoma

El acrosoma almacena las enzimas líticas necesarias para la fecundación del oocito; de su integridad depende en gran medida la capacidad fecundante de los espermatozoides según Rodríguez, H. (2000). La membrana acrosómica se puede deteriorar por muchas causas ambientales o genéticas que dañan su integridad y alteran su funcionalidad, Barth, A. y Oko, R. (1989).

La integridad del acrosoma se evalúa con el microscopio en base a su apariencia. También se puede realizar una evaluación de contraste de fases con espermatozoides fijados ó con métodos de tinción como el PSA-FITC. Vyt, P. (2007).

g. Reacción hipoosmótica

La reacción de los espermatozoides ante una solución hipoosmótica es un indicador de la funcionalidad bioquímica de la membrana, necesaria durante la fertilización, la capacitación, la reacción acrosómica y la unión del espermatozoide al óvulo. La evaluación de la resistencia osmótica, junto con la morfología espermática e integridad del acrosoma, constituyen las principales pruebas para evaluar la habilidad fecundante de los espermatozoides, Yeste, M. et al, (2010).

5. Factores que influyen sobre la calidad seminal

Se considera que el semen de verraco es de calidad cuando posee una buena capacidad fecundante, se puede obtener una mayor cantidad de dosis seminales

y puede conservarse un mayor periodo de tiempo sin perder dicha capacidad. La calidad seminal es muy variable, pueden existir diferencias entre eyaculados de un mismo reproductor o entre eyaculados de diferentes reproductores. Los principales factores responsables de esta variación son: Edad, raza, estado nutricional, alteraciones del aparato reproductor, estación del año, frecuencia de colección y estimulación sexual, Velásquez, C. (2013).

a. Edad

Influye sobre el volumen y concentración espermática. La espermatogénesis se inicia muy temprano, entre los tres a cuatro meses de edad y la erección del pene es posible observarlo a partir de los cinco meses, por ello, los primeros eyaculados se colectan a partir de los siete a ocho meses, cuando el reproductor alcanza entre 70 a 100 kilos de peso vivo, Weitze, K. (2000).

La concentración de los espermatozoides se incrementa considerablemente a partir de los 7 a 8 meses hasta el año de edad, luego se mantiene hasta la etapa de adulto. En un ambiente subtropical es factible mantener la vida productiva de un verraco como donante de semen durante 4 años, esta longevidad puede llegar a los 6 años de vida en climas más templados, Hung, Y. et al. (2010).

b. Nutrición

En los verracos, la mayor ganancia de peso vivo se relaciona con alteraciones en la composición del semen, menor volumen y anomalías morfológicas de los espermatozoides. Para obtener un eyaculado con buenas características es necesario manejar a los reproductores de manera individual y mantener un plan nutricional correcto, Marchesi, M. and Cesarini, F. (2012).

c. Raza

Este factor influye sustancialmente en el volumen y concentración espermática del eyaculado, como lo demuestran los estudios de: Ramírez, A. et al. (2000), que encontraron que el volumen del eyaculado del cerdo criollo (pelones), varió

entre 39 a 155 ml, volúmenes menores al logrado con cerdos de razas comerciales, que es entre 241 a 250 ml, Arias, D. (2000).

Algunas razas pueden presentar mayores alteraciones en la estructura de los espermatozoides, tal como lo reportaron, Rueda, M. et al. (2006), en Cuba, quienes encontraron que los animales de raza Hampshire presentaron mayores anomalías en la cabeza y; a medida que se incrementaba el tiempo de conservación se incrementaba el porcentaje de anormalidades espermáticas.

En los últimos años, con los nuevos métodos computarizados de evaluación, se ha determinado que la raza tiene influencia sobre la motilidad y fertilidad. El efecto del verraco individual explica el 29% y 31% de la variación total de la Tasa de Fertilidad (TF), y Número de Lechones Nacidos Vivos (LNV), en marranas; mientras que la línea genética explica el 22% y 18% de la variación de TF y LNV, respectivamente, Broekhuijse, M. et al. (2012).

d. Ritmo de colección

La frecuencia de las colecciones presenta una correlación inversa con el volumen del eyaculado y la concentración espermática, Rodríguez, H. (2000).

Al aumentar el número de colecciones, el volumen de eyaculado disminuye 20% en las frecuencias de dos y tres veces por semana, con reducciones mayores si el semen es extraído todos los días, Mazzarri, G. et al. (1986).

La frecuencia elevada de colecciones en el verraco originan alteraciones en el patrón de secreción y reabsorción de los fluidos del epidídimo, que ocasionarían defectos en la maduración y anormalidades en la motilidad de los espermatozoides, Pruneda, A. et al. (2005)

e. Estación

En los países de clima templado se ha comprobado un efecto marcado de la estación sobre las características seminales del verraco. Se observa disminución

del volumen durante los meses cálidos, disminución del número total de espermatozoides por eyaculado, disminución de la movilidad, aumento de la incidencia de malformaciones y del pH, aumento del porcentaje de espermatozoides con acrosoma anormal y disminución de la fertilidad, Weitze, K. (2000).

B. MORFOLOGÍA DEL ESPERMATOZOIDE

1. Características

Maroto, A. (2012), señala que la morfología espermática es evaluada por medio de tinciones como la de eosina-nigrosina, observando las muestras en campo claro, o bien después de fijar las muestras seminales en glutaraldehído, y evaluándolas mediante microscopía de contraste de fases. Existen diferentes clasificaciones para determinar la morfología de los espermatozoides, además de valores umbrales a partir de los cuales se considera una muestra espermática como morfológicamente normal y apta para ser utilizada en las distintas Técnicas de Reproducción Asistida (TRA).

La técnica propicia la evaluación rápida de una población numerosa de espermatozoides genera información precisa sobre varios aspectos de la funcionalidad espermática así lo mencionó Hidalgo, M. et al. (2005); atenuando en gran parte el factor subjetivo implícito en el análisis seminal. Uno de los aspectos que considera esta técnica es la valoración computarizada de la morfología espermática (Automated Sperm Morphology Analysis ASMA), la cual genera información sobre las dimensiones (biometría) y la forma de la cabeza del espermatozoide de una manera muy objetiva y reproducible, Buendía, P. et al. (2002).

La forma y tamaño de los espermatozoides en un momento determinado es consecuencia de los factores que afectan la espermatogénesis y su valoración ha sido tradicionalmente una técnica complementaria al análisis seminal que potencialmente puede determinar las variaciones celulares que afectan la fertilidad, Gadea, J. (2005).

Las anormalidades morfológicas se clasifican en primarias y secundarias. Las primarias se origina en el testículo y se relacionan con defectos de la cabeza espermática, acrosoma y presencia de gota citoplasmática proximal; las secundarias se originan en el epidídimo y están relacionadas con la presencia de gota citoplasmática distal y otros defectos del flagelo espermático, Chenoweth, P. (1997).

La producción de espermatozoides anormales puede deberse a la edad, problemas nutricionales, enfermedades, factores ambientales (calor, heridas por traumatismos, sustancias tóxicas, cambio de ambiente, etc.), como por razones, hormonales o genéticas, Madrid, N. (2004).

La morfología espermática en un parámetro que parece mostrar una correlación con la fertilidad o al menos una tendencia, Gadea, J. (2005).

Las alteraciones en la morfología pueden tener un origen genético, de ahí la importancia de presentar una correcta morfología. Un espermatozoide cuya información genética, la mitad del futuro embrión, no esté bien codificada y organizada no dará lugar a un embrión viable, Mestre, C. (2005).

En cerdos se ha medido la relación de la morfología espermática con la tasa de no retorno y el numero de lechones por carnada, encontrándose dualidad de resultados, esto se explica mediante el hecho de que es posible que cualquier parámetro seminal evaluado, como es el caso de la morfología espermática, sólo muestre relaciones con la fertilidad o cualquier otro objeto de estudio, cuando se obtienen claras variaciones de ese parámetro, Gravance, C. et al. (1999).

La finalidad de la evaluación de la morfología espermática es la de determinar la presencia de espermatozoides con formas anormales para lo cual se utiliza la observación de extendidos seminales con diversas coloraciones, como la eosina-nigrosina, el Giemsa o su combinación, eosina-nigrosina-giemsa, Madrid, N. (2004).

La morfología está más relacionada con las tasas de fertilidad que la concentración o la motilidad, y se sabe que los eyaculados con mejor concentración tienden a presentar menor porcentaje de células anormales. Sin embargo, la morfología espermática y el análisis del semen en su conjunto, a menudo no son suficientes para determinar un diagnóstico definitivo de infertilidad de un individuo, pues un análisis convencional no cubre el espectro biológico de una célula tan especializada como el espermatozoide. Los procesos de apoptosis y fragmentación de la cromatina, por ejemplo, son frecuentes y no se detectan con pruebas de rutina, Sánchez, M. y Martínez, R. (2012).

2. Estructuras del espermatozoide

Para valorar la forma de un espermatozoide, se observan sus tres estructuras principales: cabeza, pieza media y cola, Mestre, C. (2005).

a. La cabeza del espermatozoide

La cabeza del espermatozoide presenta importantes diferencias en la forma entre las distintas especies animales. Por ejemplo, es ovoide y discoidal en conejo, toro y cerdo, falciforme en ratón, rata y hámster, y algo aplastada y elipsoide en el hombre. La característica principal de esta estructura, es el núcleo oval aplanado, conteniendo cromatina condensada, muy compacta y que consiste en un complejo formado por ADN y una clase especial de proteínas básicas llamadas protaminas, Álvarez, C. (2003).

El núcleo espermático en el extremo anterior, está cubierto en casi su totalidad por el acrosoma, una membrana que aparece durante la espermiogénesis originada desde el aparato de Golgi. Esta estructura en forma de casquete, contiene acrosina, hialuronidasa y otras enzimas hidrolíticas que participan activamente en el proceso de la fecundación, Bonet, S. et al. (2000).

El "segmento ecuatorial" de esta zona resulta muy importante, debido a que es en esta parte del espermatozoide, junto con el segmento anterior de la región posacrosómica, donde se fusiona inicialmente la membrana del oocito durante la

fecundación. La reactividad de la membrana acrosomal representa un requisito absoluto para la fertilización in vivo; sólo los espermatozoides que pueden realizar la reacción acrosomal tienen la habilidad de pasar a través de la zona pelúcida del ovocito y, como consecuencia, fusionarse con él para formar un embrión, así lo menciona, Januskauskas, A. et al. (2000), siendo un evento muy preciso que envuelve la fusión de la membrana plasmática y la membrana acrosomal externa, Vera, O. (2001).

La cromatina nuclear está altamente condensada, ocupando un volumen significativamente menor que el ocupado en células somáticas. De hecho el DNA sufre un empaquetamiento tan estrecho con las proteínas nucleares que la transcripción es casi imposible. Este empaquetamiento de la estructura cromática puede resultar esencial para evitar el daño del DNA si los espermatozoides son expuestos a ambientes agresivos, como pueda ser la elevada acidez del tracto reproductor femenino, Álvarez, C. (2003).

El acrosoma es una vesícula intracelular, membranosa y aplanada que cubre la parte anterior del núcleo, variando considerablemente su tamaño y forma entre las distintas especies. Es una membrana que aparece durante la espermatogénesis como producto del complejo de Golgi. Si bien la membrana acrosómica interna se dispone por encima de la membrana nuclear, la membrana acrosómica externa se sitúa por debajo de la membrana plasmática, Bonet, S. et al. (2000). La reactividad de la membrana acrosomal representa un requisito absoluto para la fertilización in vivo; sólo los espermatozoides que pueden realizar la reacción acrosomal tienen la habilidad de pasar a través de la zona pelúcida y, como consecuencia, fusionarse con el oocito para formar un embrión, Januskauskas, A. et al. (2000).

b. La pieza media o cuello

La pieza media o cuello, como su nombre indica está situada entre la cabeza y el flagelo, y es una zona un poco más ensanchada que la base de la cola. Su función es primordial porque alberga las mitocondrias, consideradas el motor del movimiento del espermatozoide, pues son las responsables de generar energía.

Las alteraciones que puede sufrir son presentar una curvatura, ser de mayor grosor al estándar, presentar irregularidades o incluso no estar presente, Mestre, C. (2005).

c. El flagelo del espermatozoide

El flagelo o cola espermática está formado por un axonema eucariotípico, con una estructura radial de microtúbulos. Alrededor de este axonema se sitúan diversas estructuras que varían respecto al segmento del flagelo que se trate. Tanto la parte intermedia, como la principal, contienen una serie de elementos semirrígidos cuya función es la de otorgar direccionalidad y flexibilidad al movimiento flagelar. La parte intermedia contiene las mitocondrias estructuradas en una vaina mitocondrial, cuya función es la de generar la energía necesaria para el mantenimiento del movimiento del axonema. El flagelo está formado por el cuello o pieza de conexión y los segmentos intermedio, principal y terminal. El cuello o segmento conector es corto, y forma una placa basal que termina en una depresión en el extremo posterior del núcleo, continuando en sentido posterior, conteniendo a su vez, nueve fibras gruesas que se proyectan hacia atrás a través de la mayor parte del flagelo, Álvarez, C. (2003).

El segmento principal es el más largo del flagelo espermático y se continua en sentido posterior al anillo citoplasmático, extendiéndose casi hasta la punta del mismo, y está formado por el axonema en el centro y sus fibras gruesas asociadas. El segmento caudal o terminal, posterior a la terminación de la vaina fibrosa, contiene solo el axonema central cubierto de membrana plasmática, González, D. (2008).

La estructura del citoesqueleto, característica de espermatozoides de mamífero (y algunas especies de pájaros), consiste en un cilindro hueco formado por dos columnas longitudinales unidas por anillos circulares. Las columnas (compuestas por el débil empaquetamiento longitudinal de estructuras filamentosas de 15 a 20 μm de diámetro), están situadas en la región donde dos de las fibras densas no están presentes, recorriendo toda la pieza principal. Los anillos de la vaina están compuestos por filamentos orientados circularmente que presentan un fuerte

empaquetamiento. La vaina fibrosa parece estar implicada en la modulación del plano de batida del flagelo espermático. Finalmente, el segmento terminal presenta una ausencia total de estructuras excepto los túbulos del axonema, González, D. (2008).

3. Sistemas de la valoración morfología espermática

La valoración de la calidad del espermatozoide mediante las técnicas convencionales (observación visual al microscopio), está condicionada, a la subjetividad del análisis, por lo cual, la valoración de la morfología espermática es especialmente susceptible al error humano; a pesar de ello, se sigue realizando en la mayoría de los laboratorios, debido a lo importante que es su evaluación. Las morfoanomalías han demostrado ser un importante indicador de descenso en la fertilidad de diferentes especies, Chandler, J. et al. (1988), sin embargo, su elevado grado de subjetividad e imprecisión ha condicionado la repetitividad de los resultados; así la evaluación subjetiva y sesgada de los técnicos y las diferentes clasificaciones morfológicas a provocado una gran variabilidad en los resultados dentro y entre laboratorios, Hidalgo, M. et al. (2005).

Los estudios que abogaban por la introducción de nuevas técnicas que subsanasen la subjetividad de la evaluación manual no son relativamente recientes; esta corriente de pensamiento nació en la década de los años 40 del pasado siglo, cuando diferentes grupos investigadores de universidades norteamericanas reconocieron la necesidad de obtener datos objetivos del porcentaje de espermatozoides móviles y su velocidad, asentando la base teórica, que 40 años después, daría lugar al nacimiento de los sistemas comúnmente conocidos como CASA (*Computer Assisted Semen Analysis*). Estos científicos perseguían conseguir resultados mediante un método estandarizado, útiles tanto en la docencia, como a la hora de comparar trabajos científicos; no siendo en un primer momento prioritaria su aplicación en la clínica andrológica, Amann, R. y Katz, D. (2004).

Una vez reconocidas las carencias del análisis tradicional, el desarrollo de nuevos sistemas para su sustitución se vio beneficiado por el ingente desarrollo en el

campo de la electrónica que se produjo en las décadas siguientes, lo que propicio la aparición de diversas soluciones metodológicas para la determinación de la movilidad, Tejerina, F. (2007).

a. Turbidometría

Este procedimiento mide el ratio de migración de los espermatozoides disueltos en un medio artificial, en función de los cambios de densidad óptica producidos por el desplazamiento de las células espermáticas en el interior del recipiente que las contiene, Amann, R. y Katz, D. (2004).

Este método fue la base para el desarrollo del instrumento Sperm Quality Analyser® (Unitec Medical Systems Inc, CA, EEUU), ampliamente utilizado tanto en la especie humana como en las de interés zootécnico, Hoflack, G. et al. (2005).

b Velocimetría Laser-Doppler

Se basa en el principio de que la incisión de una haz láser monocromático sobre una dispersión espermática, ésta, lo dispersará, generando, de acuerdo al efecto Doppler, un espectro de frecuencias que dependen de los parámetros cinéticos de las células. Aunque, tanto esta técnica, como la turbidometría no aportan información de las características del movimiento de los espermatozoides individuales y la medición del porcentaje de motilidad se realiza de forma indirecta, Verstegen, J. et al. (2002).

c. Fotomicrografía de tiempo-exposición

Ésta técnica fue la primera que permitió reconstruir la trayectoria espermática de forma individual; introducida por Lord Rothschild y Swam en 1949 citado por Amann, R. y Katz, D. (2004), se basa en la realización de una sola fotografía, con un tiempo de exposición prolongado (generalmente 1 segundo), en un microscopio de campo oscuro. Con este procedimiento se conseguía que el recorrido realizado por cada espermatozoide quedase trazado en blanco sobre el

fondo oscuro del negativo. A pesar de su antigüedad, esta técnica fue constantemente mejorada hasta los años 80, en que se vio desplazada por los sistemas CASA, Tejerina, F. (2007).

d. Fotomicrografía de exposición múltiple

Es una técnica con características similares a la anterior, en este caso se utiliza un microscopio con luz estroboscópica, realizándose 6 microfotografías en 1 segundo, con lo que dispondremos de 6 puntos del recorrido realizado por el espermatozoide que nos permitirán reconstruir la trayectoria del mismo, bien de forma manual o semiautomática, Makler, A. et al. (1984).

e. Microcinematografía

Como su nombre indica, en este procedimiento se graba el movimiento espermático en una película cinematográfica, para a continuación, trazar el recorrido de los espermatozoides en función de la posición de una determinada parte de los mismo en cada uno de los fotogramas. Esta técnica permitió describir con detalle el movimiento espermático, definiendo a partir de las observaciones realizadas los parámetros que actualmente calculan los sistemas computarizados de análisis de la cinética espermática, Tejerina, F. (2007).

f. Videocinematografía

En un intento de solventar las carencias de la microcinematografía (alto coste y elevado tiempo de procesado), se recurrió a la realización de las grabaciones en cinta de video, lo que permitió el desarrollo de sistemas semiautomáticos de análisis, Mortimer, S. (1997).

La tecnología de análisis por imagen de la morfología espermática ha permitido evidenciar, entre otras, diferencias sutiles entre eyaculados o individuos que son imposibles de detectar mediante los métodos tradicionales de observación al microscopio. En este sentido, estudios previos han observado diferencias en las dimensiones de la cabeza de los espermatozoides entre machos fértiles y subfértiles, Casey, P. et al. (1997).

El análisis computarizado que se hace sobre los espermatozoides de una muestra seminal, es en parte responsable de la detección de esta heterogeneidad y está siendo utilizado actualmente para realizar evaluaciones seminales con mayor objetividad y sensibilidad, Gadea, J. (2005).

4. Anormalidades morfológicas

Sánchez, M. y Martínez, R. (2012), indican que cuando se realiza la evaluación de un eyaculado porcino, se valora el porcentaje de células anormales, que debe ser, preferentemente, menor al 14%. No obstante, un parámetro establecido como límite permisible tiene un valor de predicción muy bajo, entre otras cosas por la gran posibilidad de combinaciones de células anormales en distintos eyaculados, en el entendido que los diferentes tipos de anormalidades tienen niveles muy diferentes de gravedad. Las anormalidades morfológicas se forman en el testículo durante cualquier fase del proceso espermatogénico, y éstas pueden clasificarse en dos grupos: los de tipo primario y los de tipo secundario.

- Las anormalidades de tipo primario o testicular, se relacionan con los cambios cualitativos y cuantitativos del material nuclear y con las estructuras de origen citoplasmático, es decir que corresponden únicamente al semental. Estas tienden a ser más severas, se considera que se originan en el interior de los túbulos seminíferos y reducen en calidad y cantidad el potencial espermiogénico del testículo. Entre éstas se cuentan cabeza piriforme, macrocefalia, microcefalia, cola enrollada, cabeza alargada.
- Las anormalidades de tipo secundario son menos delicadas y se presentan después de la formación de los espermatozoides y se desarrollan sobre todo cuando se altera el plasma seminal, frecuentemente por la acción de factores como el aumento o la disminución de la temperatura en el testículo o por la manipulación del semen durante su evaluación y procesamiento. También se pueden deber a un manejo deficiente del semental. Algunas de éstas, pueden ser gota citoplasmática distal y proximal, cola doblada, cabeza desprendida.

C. MORFOMETRÍA DE LOS ESPERMATOZOIDES

Para la evaluación de la morfometría se analizan las imágenes de los espermatozoides capturados una vez fijados y teñidos sobre un porta. Con las imágenes obtenidas se pueden analizar diferentes partes del espermatozoide (cabeza, pieza intermedia y flagelo). Así, estos sistemas proporcionan información individualizada de características de la célula más precisas, como el área y el perímetro de la cabeza del espermatozoide, el diámetro de la pieza intermedia y la longitud del flagelo, entre otros. La información obtenida a nivel individual con estos sistemas puede ser analizada posteriormente empleando métodos estadísticos para obtener una información más precisa de las características del eyaculado. Estos sistemas han sido utilizados para estudiar diferencias con respecto a la morfometría del espermatozoide entre machos e incluso entre especies, Hirai, M., et al. (2001).

Tejerina, F. (2007), señala que la totalidad de los programas morfométricos realizan la medición de los siguientes parámetros de la cabeza espermática:

- Longitud (L): Medida, en μm , del eje mayor de la cabeza del espermatozoide.
- Anchura (W): Medida, en μm , del eje menor de la cabeza del espermatozoide.
- Perímetro (P): Longitud, en μm , de la frontera externa entre la zona identificada como cabeza y el fondo.
- Área (A): Suma, en μm^2 , de las áreas del grupo de píxeles que el software ha identificado como cabeza.

Además reporta que en algunos sistemas ASMA, como en el Sperm Class Analyzer®, o el Integrated Semen Analysis System®, realizan el cálculo de 4 parámetros adicionales, indicativos de la forma del espermatozoide:

- Elipticidad: L/W .
- Rugosidad: $4 \pi A/P^2$.
- Elongación: $(L-W)/(L+W)$.
- Regularidad: $(\pi LW/4A)$.

1. Evaluación de la morfometría de la cabeza espermática

Para la evaluación objetiva de la morfometría del espermatozoide se requiere la fijación y tinción de la muestra seminal. El método de fijación es un paso crítico, y se ha comprobado que puede afectar a los resultados del ASMA. El protocolo de tinción es fundamental, ya que puede influir en el contraste de los espermatozoides y en la identificación de diferentes áreas dentro de la célula. Para minimizar el efecto de este factor sobre la variabilidad de los resultados, se recomienda replicar siempre los análisis. Así, se recomienda realizar al menos un duplicado para poder evaluar la variación dentro de una misma muestra. Además, la variación dentro de la misma preparación también debería ser evaluada para determinar si existen problemas en la fijación o en la tinción, Maroto, A. (2012).

Las cabezas de los espermatozoides de mamíferos presentan formas y tamaños muy variados; siendo la de cerdo ovoide, con una longitud de 8,4 a 9,4 μm y una anchura de 4,2 a 5,5 μm , Tejerina, F, (2005).

2. Morfometría de la cabeza espermática y su relación con la fertilidad

Los espermatozoides son células altamente diferenciadas que tienen la función de fertilizar los ovocitos. Su particular organización estructural resulta de cambios morfo-genéticos complejos que se producen durante la espermiogénesis. Así, para realizar con éxito su función, los espermatozoides deben permanecer intactos y funcionalmente activos. Cada componente celular: cabeza, pieza intermedia y flagelo juega un papel crucial en la función espermática, Auger, J. (2010).

El estudio de la morfometría de la cabeza del espermatozoide es de gran interés debido a la implicación directa que tiene sobre su función. Se ha demostrado que es esencial un óptimo empaquetamiento del ADN espermático para una correcta expresión del potencial fértil del macho y que la manipulación de los espermatozoides puede ser la causa de un deterioro del ADN nuclear, con resultados variables. Se cree que las modificaciones en la forma y la dimensión de la cabeza espermática, pueden reflejar defectos en la estructura e integridad

de la cromatina del espermatozoide, Núñez, I., et al. (2005).

La velocidad de los espermatozoides también se encuentra influenciada por la forma de la cabeza, Gil, M., et al. (2009), demostraron que los espermatozoides con mayor longitud y área de la cabeza son los que tienen bajos valores de velocidad lineal y progresiva. La velocidad de natación de los espermatozoides ha sido propuesta como una característica relevante para la fertilidad del macho.

Malo, A., et al. (2005), han observado que existe una relación entre la velocidad y la capacidad de fertilización. Por lo tanto, aquellos espermatozoides con cabezas más pequeñas y elongadas nadan más rápido teniendo así más posibilidades de fecundar el ovocito. De este modo, pequeñas diferencias en la forma de la cabeza espermática pueden ser la causa de grandes diferencias en la hidrodinámica del espermatozoide, y por extensión de grandes diferencias en la fertilidad.

Diversos autores han demostrado en diferentes especies, que los machos que presentaban en sus eyaculados espermatozoides con cabezas más grandes y elongadas, eran menos fértiles que aquellos machos que presentaban menor proporción de estos espermatozoides, y por lo tanto los machos con mayor fertilidad mostraban cabezas más pequeñas y redondeadas, Maroto, A. (2012).

3. Resultados del estudio de la morfometría

González, D., et al. (2008), para determinar los parámetros morfométricos de la cabeza espermática en semen porcino, así como evidenciar la presencia de subpoblaciones espermáticas, estudiaron 20 muestras seminales de 10 verracos Dalland. Sobre semen fresco y refrigerado en los que evaluaron mediante el análisis automatizado de la morfología espermática (ASMA), en frotis teñidos con Hemacolor®, realizaron las mediciones de la cabeza espermática: Longitud (μm), Ancho (μm), Área (μm^2), Perímetro (μm), y función Largo/Ancho. La refrigeración a 16°C por 24 horas no afectó las características de calidad seminal de los eyaculados, pero si afectó las características morfométricas. La longitud de la cabeza disminuyó de 8,82 a 8,71 μm , así como el perímetro de 30,08 a 29,05 μm , mientras que aumentaron los valores de ancho (4,36 a 4,45 μm), y área (33,13 a

33,14 μm^2).

González, D. (2008), señala que fueron evaluadas un total de 20 muestras (2 por verraco), las cuales se caracterizaron por obtener los mínimos requerimientos de calidad establecidos por la granja para poder ser utilizadas en el programa de inseminación artificial, esto es, una adecuada calidad de la motilidad y concentración espermática. De estas muestras se obtuvieron un total de 20 extendidos para la evaluación de la morfología y morfometría, obtenido los resultados se reportan, (cuadro 2).

Cuadro 2. CARACTERÍSTICAS GENERALES Y MORFOMÉTRICAS DE LOS ESPERMATOZOIDES DE SEMEN DE VERRACO.

Parámetro	Media	Desviación Estándar
Concentración Espermática ($10^6/\text{ml}$)	68,43	17,24
Nº de dosis x eyaculado	16,98	4,40
Calidad de la Motilidad	3,40	0,19
Vitalidad (%)	93,25	10,04
Acrosomas reaccionados (%)	3,12	3,17
Espermatozoides anormales (%)	19,83	10,98
Longitud de la cabeza μm	8,81	0,48
Ancho de la cabeza μm	4,43	0,35
Área de la cabeza μm^2	33,48	3,26
Perímetro de la cabeza μm	29,54	1,98
Función largo/ancho	1,99	0,16

Fuente: González, D. (2008).

Según Morales, B. (2010), el efecto de la refrigeración a 16°C por 24 horas sobre las características morfométricas de la cabeza del espermatozoide se pueden observar en el cuadro 3, que es el resultado de la evaluación de 11,098 espermatozoides, de los cuales 5,683 correspondían al semen fresco y 5,415 al semen refrigerado. Señalando que los espermatozoides sufren una alteración en las dimensiones biométricas de su cabeza debido a las condiciones de refrigeración a 16°C por 24 horas ($p < 0,01$). Las mediciones hechas sobre la longitud, el ancho, el área y el perímetro del espermatozoide evidencian un

incremento en sus dimensiones; sin embargo, no se observan cambios en la elongación del espermatozoide debida a la refrigeración.

Cuadro 3. CARACTERÍSTICAS MORFOMÉTRICAS DE LOS ESPERMATOZOIDES DE CERDOS COMPARANDO EL SEMEN RECIÉN COLECTADO VERSUS EL SEMEN REFRIGERADO A 16°C POR 24 HORAS.

Parámetros morfométricos	Semen recién colectado	Semen refrigerado
Longitud de la cabeza (um)	8,41+0,01 a	8,50+0,009
Ancho (um)	4,23+0,003 a	4,24+0,003 b
Área(um ²)	31,30+0,04 a	31,62+0,045 a
Perímetro (um)	22,36+0,02 a	22,49+0,02 a
Elongación (um)	0,32+0,0005 a	0,33+0,0005 a

N= 11.098 espermatozoides evaluados correspondiente a 27 cerdos.

Letras distintas en la misma fila implica diferencias significativas ($p < 0,01$).

Fuente: Morales, B. (2010).

Quintero, A. et al. (2009), utilizó el Análisis Automatizado de la Morfometría Espermática (ASMA), con el fin de determinar las dimensiones de la cabeza del espermatozoide (DCE), en semen de cerdos domésticos según la edad, además de agrupar las medidas obtenidas en subpoblaciones espermáticas (SP). Evaluaron 36 muestras de semen fresco y diluido de 20 cerdos los cuales se clasificaron en dos categorías. A: menores de 18 meses de edad y B: mayores de 18 meses de edad. Las DCE (Largo, μm / Ancho, μm / Área, μm^2 y Perímetro, μm) se analizaron en frotis teñidos con Hemacolor® mediante Sperm-Class Analyser® (SCA), y los valores obtenidos guardados en una base de datos. El procedimiento GLM fue utilizado para evaluar el efecto de la edad del cerdo sobre las DCE y el análisis de agrupamiento (FASTCLUS), para identificar las SP. Los espermatozoides provenientes de cerdos mayores de 18 meses de edad presentaron mayor longitud (8,84 vs. 8,95 μm), que los cerdos menores de 18 meses de edad, sin embargo, las medias correspondientes al ancho (4,44 vs. 4,32 μm), área (33,33 vs. 32,39 μm^2), y perímetro (27,65 vs. 26,3 μm), fueron más pequeñas en los cerdos de mayor edad. En conclusión, la edad de los cerdos influye significativamente sobre las DCE. Los cerdos de mayor edad tienen 20% más de espermatozoides de menor tamaño que los cerdos más jóvenes.

D. INSEMINACIÓN ARTIFICIAL

1. Características e importancia

La inseminación artificial en cerdos no es una técnica nueva, pero su empleo se ha disparado durante esta última década. Es importante recordar que la inseminación artificial es una herramienta que solamente funcionará en sus operaciones si la maneja y la usa correctamente. La inseminación debe hacerse correctamente y en el momento óptimo. Para obtener una alta tasa de concepción y camadas numerosas, la detección del estro debe ser hecha cuidadosamente y sin fallas. Comprar el semen permite diversidad genética, que puede usarse para optimizar los sistemas de cruzamientos en las granjas más pequeñas y aumentar el progreso genético. Esto se puede lograr sin el gasto de comprar y mantener un verraco superior. Además, los buenos verracos pueden usarse más extensivamente que los que se utilizan para monta natural porque con la IA se aumenta el número de inseminaciones por eyaculado, Agrobot.com. (2012).

La técnica de inseminación artificial contempla la deposición del semen mediante un catéter o pipeta que permite depositar el semen en el cérvix. A partir de aquí, el semen tiene que atravesar el cérvix y llegar al cuerpo uterino. Este paso se realiza a través de las contracciones uterinas, Roca J, et al. (2006).

A finales de los 90, se despertó un gran interés por desarrollar nuevas técnicas de deposición del semen en el cuerno uterino o en el cuerpo, bien vía quirúrgica o no quirúrgica, que permitieran el uso de una concentración baja de espermios y un volumen menor de semen, sin que se afectara la productividad. El objetivo principal de los investigadores era poder optimizar los verracos de mayor valor genético, Vázquez, J. et al. (2003).

Según Rocha, G. (2005), la inseminación artificial es una biotecnología de la reproducción de primera generación que consiste en la introducción del semen en los órganos genitales de la hembra sin la intervención del macho, facilitando la fecundación y producción de una cría.

La inseminación artificial en cerdas permite proveer de material genético de excelente calidad a la granja para mejorar los parámetros productivos y reproductivos, su contribución ha logrado la máxima utilización del potencial genético de reproductores con alto valor y ha sido un instrumento fundamental en la prevención y lucha contra las enfermedades porcinas, Ramírez, N. (2013).

2. Ventajas de la inseminación artificial

a. Ventajas zootécnicas

Según Kubus (2011), la inseminación artificial presenta las siguientes ventajas zootécnicas:

- Disminución del número de verracos con ahorro de espacio y de costes de mantenimiento.
- Difusión rápida del progreso genético, mejorando los rendimientos al utilizar sementales de mayor valor genético obteniéndose una mejora más rápida en las explotaciones porcinas.
- Producción de lotes más homogéneos con destino al matadero.
- Incremento en la precisión de la evaluación del valor genético.
- Los sementales en IA producen gran descendencia.
- La información medida en la descendencia e incluida en un índice de selección aumenta la precisión en la evaluación de los caracteres medidos.
- Incremento en la intensidad de selección por aumentar el número de concepciones por semental vía IA en comparación con la monta natural, por lo que se reduce el número de sementales a ser seleccionados.
- Permite controlar la calidad espermática de los sementales que están sujetos a múltiples efectos ambientales, de manejo y sanitarios.

b. Ventajas sanitarias

De acuerdo con Kubus (2011), la inseminación artificial presenta las siguientes

ventajas sanitarias:

- Reducción del riesgo de transmisión y aparición de enfermedades infecto contagiosas por vía sexual.
- Se reduce la entrada de animales portadores de enfermedades del exterior.

c. Ventajas de manejo

Las ventajas de manejo que se consiguen con la inseminación artificial según, Kubus (2011), son:

- Ahorro de tiempo y esfuerzo evitando la monta natural y el desplazamiento de los reproductores.
- Permite usar animales de distinto peso en el cruce.
- Reduce el stress de animales con problemas cardíacos o de claudicación durante la monta.

3- Desventajas de la inseminación artificial

Franco, J. (2010), indica que las desventajas de la inseminación artificial son:

- Posibilidades de errores humanos.
- Exposición del semen a factores ambientales, sin la debida protección.
- Requiere de una adecuada detección del celo, para establecer el momento óptimo de la inseminación.
- Elevados costos para el montaje del laboratorio en explotaciones pequeñas.

E. TIPOS DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL

Gil, J. (2007), señala que según el punto de deposición del semen las técnicas de inseminación se agrupan como:

- Inseminación Cervical ó Standard, (SAI).
- Inseminación Post Cervical, (PCAI).
- Inseminación Intrauterina, (DUI).

En el cuadro 4, se reportan las diferencias existentes entre los diferentes tipos de inseminación artificial que se realizan en porcinos.

Cuadro 4. CARACTERÍSTICAS DE LA INSEMINACIÓN CERVICAL (SAI), POST CERVICAL (PCAI) E INTRAUTERINA (DUI).

Características	SAI	PCAI	DUI
Longitud aproximada del catéter / cánula / cánula. (cm)	54	73	148
Reducción del volumen de la dosis	no	si	si
Reducción N° espermatozoides	no	si	si
Volumen dosis recomendado. (ml)	90	30	5
N° espermatozoides normalmente usados (millones)	3000	1000	150
N° mínimo de espermatozoide recomendados (millones)	1500	500	150
Más dosis por eyaculado	no	si	si
Menor número de verracos	no	si	si
Reducción coste instalación y mantenimiento de verracos	no	si	si
Mayor uniformidad de cerdos a matadero	no	si	si
Mayor utilización de verracos genéticamente superiores	no	si	si
Mejor índice de transformación	no	si	si
Mejor velocidad de crecimiento	no	si	si
Menor coste Kg carne	no	si	si
Reducción tiempo de inseminación	no	si	no
Facilidad de utilización en rutina de trabajo	si	si	no
Utilización en todo tipo de cerdas	si	no	no
Utilización en cerdas destetadas	si	si	si
Utilización en nulíparas poco desarrolladas (1er y 2º celo)	si	no	no
Utilización en nulíparas bien desarrolladas (3er y 4º celo)	si	si	si
Disponibilidad de semen para fecundación en ambos cuernos	si	si	no

Fecundación bilateral	si	si	
Óptimos parámetros reproductivos	si	si	no
Mayor rentabilidad semen congelado	no	si	si
Uso con semen sexado	no		si

Fuente: Gil, J. (2007).

1. Inseminación cervical o estándar (SAI)

En la Inseminación cervical o estándar (SAI), se fija el catéter al inicio del cérvix. El semen debe atravesar este laberinto y alcanzar el cuerpo del útero, desde donde se distribuye a ambos cuernos. Las técnicas utilizadas pretenden mejorar el paso del semen por el cérvix y conseguir que llegue suficiente cantidad al cuerpo del útero, para garantizar la fecundación. Por eso se insemina con semen fresco, con el macho delante, estimulando la cerda con masajes, simulando la monta con la ayuda de mochilas u otro tipo de material y se aplican técnicas de auto inseminación, Gil, J. (2007).

a. Procedimiento

Torres, R. et al. (2013), describen el procedimiento que se debe seguir en la Inseminación cervical o estándar (SAI):

- Limpiar la vulva con gasa y agua destilada, abrir los labios vulvares e introducir el catéter previamente lubricado con unas gotas de semen o gel lubricante no espermicida.
- Desplazar suavemente el catéter hacia adelante y arriba en un ángulo de 45° grados dirigiéndolo hacia la columna vertebral para evitar introducirlo al meato urinario y dar suaves movimientos de empuje y rotación.
- Una vez introducido parte del catéter, se notará cierta resistencia, es la entrada al cérvix, rote el catéter en el sentido contrario a las agujas del reloj para que el extremo del mismo quede trabado en los pliegues del cuello

uterino, que se encuentran turgentes y facilitan el sellado perfecto del catéter.

- Sacar la dosis del termo y rotarla para resuspender las células, romper el orificio de salida del semen y acoplar el frasco al extremo libre del catéter introduciendo lentamente el contenido, permitiendo que el semen fluya por gravedad. En las cerdas multíparas el contenido desciende fácilmente por gravedad, en las primerizas a veces es necesario una ligera presión.

2- Inseminación post-cervical

Llamas, P. (2012), reporta que la inseminación post-cervical porcina es una técnica que rápidamente muestra sus beneficios productivos tanto a las empresas como a los operarios. Para la empresa significa maximizar de forma importante el potencial genético de los cerdos, por la disminución en el número de espermatozoides útiles por inseminación, lo que se traduce en una innegable reducción de costes en el momento de la inseminación y mejora en los parámetros productivos, índice de transformación, velocidad de crecimiento, homogeneidad de los lotes, que se reflejan de forma positiva en el balance económico de la explotación. Para el operario representa seguridad y reducción del tiempo de trabajo. Realmente ha sido la gran aceptación por parte de los operarios de cubriciones, el motivo principal que explica el éxito en la implantación definitiva de esta técnica. Los operarios, una vez terminada la inseminación, tiene sensación de seguridad y de trabajo bien hecho dado que cuando se realiza la técnica de forma correcta no hay reflujo.

Loaiza, Y. (2014), manifiesta que la inseminación post-cervical consiste en la deposición del contenido de la dosis seminal, a través de la región cervical del aparato reproductor de la hembra, mediante el uso de una sonda simple o compuesta en la porción craneal del cérvix, en el cuerpo del útero, o el comienzo del cuerno uterino. Para realizar la inseminación post-cervical se pueden utilizar varios sistemas: De estos sistemas hay unos que utilizan catéter guía, y otros que no.

Durante la inseminación post-cervical el semen se introduce directamente en el

cuerpo del útero utilizando una cánula, más larga (de 74 a 75 cm según el modelo y fabricante), semirrígida y fina que un catéter tradicional. Esta cánula pasa a través de los anillos del cérvix hasta llegar al cuerpo del útero, y al igual que en la inseminación artificial tradicional se utiliza de guía para la introducción de la cánula. Es muy variable el volumen (de 30 a 80 ml) y la concentración (500, 750, 1000, 1500 x 10⁶ espermios/dosis), dependiendo del fabricante y el protocolo que describe cada uno de ellos, De Alba, C. (2011).

a- Ventajas

Según Gil, J. et al. (2002), del uso de la Inseminación post-cervical permite:

- Reducir el número total de espermatozoides por dosis: entre 500 y 1000 millones vs. 3.000 millones usados en la técnica convencional.
- Reducción del volumen de la dosis: entre 15 y 30 ml vs. 80 y 100 ml usados en la técnica convencional.
- Mayor rendimiento de los verracos con alto valor genético. Los verracos de mayor mérito genético pueden cubrir un mayor número de cerdas, por lo que su aprovechamiento y el progreso genético es significativamente mayor.
- Reducción del tiempo necesario para la inseminación. Cuanto mayor es el tamaño de la explotación, mayor reducción en el tiempo de trabajo.
- Minimizar el reflujo durante y después de la inseminación.
- Mejores resultados con semen congelado.

Casas, I. et al. (2010), afirman que la Inseminación post-cervical puede mejorar sustancialmente la fertilidad del semen descongelado. Los resultados de fertilidad se pueden duplicar si se utiliza semen descongelado previamente seleccionado (con motilidad progresiva >50% y viabilidad >45%).

b. Procedimiento

Loaiza, Y. (2014), como metodología general recomienda, pasear al macho recelador por delante de las cerdas justo antes de inseminar, para que sirva de

estímulo inicial y las hembras se levanten y presenten cierta predisposición a la inseminación. Una vez hecho esto, el verraco es retirado. Otra opción, consiste en recelar justo antes del momento de la cubrición. Inicialmente se actuará igual que para una inseminación tradicional:

- Limpiar la vulva de las cerdas a inseminar, para ello utilizar toallitas de papel, retirando cualquier resto de suciedad tanto de la entrada, como de interior de la vulva, para que esta no sea desplazada hacia el interior de la vagina con el catéter.
- Antes de introducir el catéter, la cerda debe saber que va a ser inseminada y para ello se realizará una estimulación presionando la zona lumbar, los flancos, e incluso haciendo un leve masaje en la vulva.
- Coger el catéter por el tercio posterior y aplicar con cuidado gel lubricante en la punta.
- Introducir el catéter:
 Abrir la vulva con una mano, e introducir el catéter con la otra.
 Introducir el catéter dirigiendo la punta hacia arriba.
 Meter el catéter con cuidado para no dañar a la cerda, y en el momento en que se empieza a notar cierta resistencia, realizar un movimiento rotatorio en sentido contrario a las agujas del reloj (2 giros y $\frac{1}{2}$ más o menos).
 Se puede dejar introducido un par de minutos antes de meter la dosis, esto ayuda a estimular las contracciones uterinas y la relajación del cérvix.
 Antes de introducir la dosis, hay que asegurarse de que el catéter está enganchado, realizando una leve tracción en sentido caudal.
- Una vez introducido el catéter guía se procede a la introducción de la sonda post-cervical. Para ello se recomienda seguir el siguiente procedimiento:
 - Poner una gota de lubricante en la punta de la sonda.
 - Deslizarla por el interior de la “guía” hasta llegar a la zona de los pliegues.
 - Introducirla con cuidado, con movimientos constantes.
 - No hacer movimientos bruscos.

- Introducción de la dosis seminal:

En primer lugar, se debe efectuar una homogenización del contenido de la dosis seminal, independientemente de que se trate de dosis tradicionales de 80-100 ml, o de minidosis de 30-45 ml.

Es recomendable introducir el contenido de la dosis seminal suavemente, permitiendo la dilatación del cuerpo del útero para adaptarse a la introducción del volumen elegido y evitar así reflujos indeseables. Al acabar, se puede aplicar una pequeña cantidad de aire para evadir dejar restos de la valiosa dosis seminal en el interior de la sonda.

- Por último se procede a sacar el conjunto catéter+sonda+dosis:
- Sin quitar el envase, retirar la guía y la sonda, todo junto, como si fuera una pieza para evitar el reflujo del contenido de la dosis.

3. Inseminación intrauterina

La inseminación artificial quirúrgica garantizaba la posibilidad de reducir el número de espermios a depositar cerca de la unión útero-tubárica. Pero estas técnicas no se podían aplicar de forma rutinaria en las granjas porcinas, por lo que se buscaron alternativas a la cirugía, que permitieran depositar el semen lo más cerca posible del sitio de fertilización, siempre con el objetivo de disminuir el número de espermios por inseminación. Así se llegó a la denominada Inseminación intrauterina, la cual se define como la deposición del semen directamente en el cuerpo del útero mediante un catéter especial de inseminación artificial, De Alba, C. (2011).

En la Inseminación intrauterina, el material utilizado es muy similar al empleado en la inseminación post-cervical, pero la cánula es considerablemente más larga. El objetivo es depositar el semen sólo en uno de los cuernos, lo más cerca posible de la unión útero-tubárica. Esto dificulta enormemente la fecundación bilateral, por lo que puede reducirse la prolificidad, Gil, J. (2007).

La Inseminación Intrauterina permite depositar los espermatozoides, por vía quirúrgica o no quirúrgica, en la profundidad de un cuerno uterino. Con la Inseminación Intrauterina Profunda, la dosis espermática puede ser depositada en

la profundidad de un cuerno uterino de forma rápida y sencilla, aunque el coste del sistema es elevado, De Alba, C. (2011).

Los estudios llevados a cabo comparando la Inseminación Intrauterina con la inseminación artificial tradicional indican que con esta técnica se puede reducir 20 veces el número de espermatozoides/dosis ($0,15 \times 10^9$), y el volumen de la dosis (5 ml), sin que la fertilidad a parto y el tamaño de camada se vea afectado, Martínez, E. et al. (2010).

El primer procedimiento que permitió realizar una Inseminación Intrauterina, en la cerda fue descrito y patentado por la Universidad de Murcia por Martínez, E. et al. (2001). Para poder realizar una inseminación intrauterina, estos investigadores tuvieron que salvar los principales obstáculos anatómicos del aparato genital de la cerda: la rigidez de los pliegues cervicales y, la longitud y particular disposición en curva de los cuernos uterinos. Para efectuar la inseminación intrauterina y depositar los espermatozoides al final del cuerno uterino se diseñó un catéter de 1,80 metros de longitud y 4 milímetros de diámetro que permite alcanzar el extremo profundo del cuerno uterino. Dicho catéter combina las propiedades de rigidez (para su introducción a través del cérvix y cuello uterino), y flexibilidad (para adaptarse al cuerno uterino), garantizando que el tracto genital no sufra daño alguno durante el proceso. El diseño del catéter está basado en la sonda flexible de fibra óptica con la que realizaron las primeras inseminaciones en la profundidad del cuerno uterino mediante un endoscopio.

Para que la inseminación intrauterina se pueda aplicar en la granja, es requisito indispensable el entrenamiento del personal. El uso incorrecto puede dañar el tracto reproductivo en la cerda y además se requiere un nivel de higiene alto para garantizar que el catéter este limpio durante la introducción del mismo hacia la parte profunda del cuerno uterino. La introducción de un catéter sucio puede dar lugar a infecciones graves del tracto reproductivo, De Alba, C. (2011).

Una de las incógnitas que plantea la técnica es que la deposición del semen se realiza en un cuerno, por lo que podría ser causa de un descenso de la fertilidad. Pero este mismo grupo de investigadores decidieron profundizar en este tema y

demonstraron que los espermatozoides pueden alcanzar el cuerno contra lateral mediante una vía intrauterina, en la gran mayoría de los casos, aunque en un porcentaje pequeño y probablemente debido a las condiciones anatómicas y fisiológicas en el momento de la ovulación, los espermatozoides son capaces de alcanzar el oviducto contra lateral por migración transoviductal a través de la cavidad peritoneal, Vázquez, J. et al. (2003).

a. Ventajas

Según Martínez, E., et al (2001), la inseminación intrauterina presenta ventajas indiscutibles:

- Aumenta entre 8 y 20 veces los rendimientos de inseminación ya que posibilita una importante reducción en el número de espermatozoides por dosis de inseminación.
- Se optimizan los machos de alto valor genético para diseminar de forma más rápida dicha genética, pero para ello es necesario garantizar que la calidad de la dosis, calidad seminal, sea excelente.
- Incrementa el número de cerdas inseminadas a partir de un solo eyaculado, sin afectar el porcentaje de partos aunque con una ligera afectación del número de lechones nacidos por camada.
- Es la herramienta de elección para la aplicación de nuevas tecnologías a nivel de campo, esto es semen congelado o sexado.

b. Desventajas

Según Roca J, et al. (2011), la inseminación intrauterina presenta las siguientes desventajas:

- No se debe utilizar con cerdas nulíparas. Esto es matizable ya que si es posible de utilizar en cerdas a partir del tercer celo siempre que sean cerdas con buen desarrollo y previamente seleccionadas.
- No es una técnica sencilla. Se necesita un personal bien entrenado y

motivado. Esta premisa es aplicable a cualquier nueva tecnología o protocolo a introducir en una explotación.

- El precio alto del catéter. Si el valor de la genética es alto, semen de verracos TOP (ya sea fresco o congelado) y semen sexado, el coste del catéter queda totalmente justificado y amortizado.

F. REFLUJO EN LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL

De Alba, C. (2011), señala que el reflujo de semen en la inseminación artificial es un hecho común, que no depende del sitio donde se deposita el semen ni está relacionado con problemas reproductivos. El reflujo de semen durante o poco después de la inseminación ha sido considerado por muchos técnicos como un punto crítico en la técnica de IA. El reflujo de líquido se produce en todas las inseminaciones como un mecanismo normal de defensa del útero. El tracto genital de la cerda es muy eficaz para hacer llegar los espermatozoides al oviducto durante los 30 minutos posteriores a la IA. Esto ocurre en el 98% de las IA, por lo que cada ml de líquido perdido contiene menos espermatozoides a medida que pasa el tiempo. En la IA tradicional, por lo general, el reflujo se minimiza mejorando la técnica de IA (detección de celo, fijación del catéter, estimulación de la cerda antes y después de la aplicación seminal).

Se ha demostrado que con la técnica tradicional de I.A. es necesario un volumen de 80-100 ml de semen para que logre alcanzar los cuernos uterinos y la unión útero-tubárica. Durante el transporte del semen por los cuernos uterinos, las contracciones juegan un papel muy importante, ya que permiten que se pueda encontrar semen en los oviductos entre los 15 minutos a 2 horas luego del servicio. Si las contracciones ascendentes no son suficientes, se produce una gran pérdida de material seminal, por los reflujos durante y después de la inseminación artificial. Si bien son variadas las causas de la aparición de reflujo, juega un papel muy importante la habilidad del técnico y la paciencia con que realiza la I.A, <http://albeitar.portalveterinaria.com>. (2004).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

A. LOCALIZACIÓN Y DURACIÓN DEL EXPERIMENTO

La presente investigación se realizó en el Departamento de Fisiología de la Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, Murcia, España, con cerdos de la Granja porcina La Fontana, Totana-Murcia.

B. UNIDADES EXPERIMENTALES

Las unidades experimentales estuvieron conformadas por los espermatozoides presentes en las muestras de las recolecciones de los reflujos en diferentes tiempos obtenidas tras la inseminación artificial cervical y post-cervical de cerdas multíparas, así como de los lavados de los tramos del aparato reproductor femenino (útero, oviductos y unión útero-tubárica, del lado derecho e izquierdo), obtenidos por medio de pos cirugía de cerdas inseminadas artificialmente 24 horas antes, analizándose en total el número de espermatozoides que se detalla en el cuadro, (cuadro 5).

Cuadro 5. NÚMERO DE ESPERMATOZOIDES ANALIZADOS DE ACUERDO AL FACTOR DE ESTUDIO.

Factor de estudio	Nº espermatozoides
Reproductores	5491
Tipo de inseminación	5491
Tiempos de reflujo	6273
Lavado aparato reproductor femenino	945

C. MATERIALES, EQUIPOS E INSTALACIONES

Los equipos, materiales e instalaciones utilizadas fueron los siguientes:

1. Materiales

- Catéteres de inseminación cervical y post-cervical.

- Dosis seminales.
- Pipeta Pasteur.
- Bolsas de colostomía humana.
- Tubos de recolección.
- Caja para portaobjetos.
- Portaobjetos.
- Cubreobjetos (25 x 60mm).
- Metanol.
- Cubeta de tinción.
- Hematoxilina-eosina.
- Xilol.
- Alcohol de 70%, 96% y 100%.
- Agua destilada.
- Pinzas.
- DPX (pegamento).
- Aceite para lente de microscopio.
- Material de cirugía.
- Anestésicos.
- Pbs.
- Material de escritorio.

2. **Equipos**

- Equipos de sedación.
- Cabina de flujo laminar.
- Microscopios con cámara integrada.

3. **Instalaciones**

- Galpones de cerdas reproductoras.
- Laboratorio de semen.
- Quirófano experimental.

4. Software

- Integrated Semen Analysis System® (ISAS®).
- IMAGE J (procesamiento de imagen digital).

D. TRATAMIENTOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL

Se evaluó las características morfométricas de los espermatozoides presentes en los reflujos de las cerdas después de aplicarse la inseminación artificial para ser comparados con muestras de semen fresco, tomándose como factores de estudios independientes los cerdos empleados (5 animales), el tipo de inseminación artificial (cervical y post-cervical), así como los diferentes tiempos en que se recolectó los reflujos (0 a 15, 16 a 30 y 31 a 60 minutos). Además, se analizaron muestras de lavados de diferentes tramos del aparato reproductor femenino (útero, oviductos y unión útero-tubárica, del lado derecho e izquierdo), obtenidas por cirugía de cerdas inseminadas artificialmente 24 horas antes, por lo que las muestras fueron distribuidas bajo un diseño completamente al azar con desigual número de repeticiones, por lo que para el análisis de los resultados experimentales se ajustaron al siguiente modelo lineal aditivo:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ijk}$$

Dónde:

Y_{ijk} = Valor del parámetro en determinación.

μ = Media general.

α_i = Efecto de los Tratamientos.

ε_{ijk} = Efecto del error experimental.

Los esquemas del experimento utilizados en el trabajo se reportan en los cuadros 6 y 7, teniéndose en cuenta que los factores de estudio se analizaron independientemente y se tomó en consideración el número de espermatozoides encontrados.

Cuadro 6. ESQUEMA DEL EXPERIMENTO PARA LA EVALUACIÓN DE LA MORFOMETRÍA DE LA CABEZA DE LOS ESPERMATOZOIDES.

Factor de estudio	Código	N° de espermatozoides analizados
Reproductores		
Nº 3276	M1	1036
Nº 3104	M2	749
Nº 3237	M3	900
Nº 3223	M4	1151
Nº 3245	M5	1655
Total		5491
Tipo de Inseminación.		
Post-cervical.	IAPC	3206
Cervical.	IAC	2285
Total		5491
Tiempos de reflujo		
Dosis original	R1	782
Reflujo 0 - 15 min	R0-15	1200
Reflujo 16 - 30 min	R16-30	1859
Reflujo 31 a 60 min	R31-60	2432
Total		6273

Cuadro 7. ESQUEMA DEL EXPERIMENTO PARA LA EVALUACIÓN DE LARGO DE LA COLA LOS ESPERMATOZOIDES.

Tratamiento	Código	N° de espermatozoides analizados
Dosis original	R1	1119
Reflujo 0 - 15 min	R0-15	1330
Reflujo 16 - 30 min	R16-30	1981
Reflujo 31 a 60 min	R31-60	2623
Lavado oviducto	LO	744
Lavado uterino	LU	25
Lavado útero-tubárica	LUT	176
Total		7998

E. MEDICIONES EXPERIMENTALES

Las mediciones experimentales que se consideraron fueron las características morfométricas de los espermatozoides de acuerdo a los reproductores, al tipo de inseminación artificial, en los reflujos a diferentes tiempos y en varias secciones del aparato reproductor femenino (lavado).

En la cabeza:

- Longitud, μm .
- Ancho, μm .
- Área, μm^2 .
- Perímetro, μm .
- Elipticidad.
- Rugosidad.
- Elongación.
- Regularidad.

En la cola:

- Largo, μm .

F. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS Y PRUEBA DE SIGNIFICANCIA

Los resultados experimentales obtenidos fueron procesados en el paquete informático SPSS V 21.0 (SPSS Inc., Chicago Illinois, EEUU), en los que se realizaron los análisis de varianza con desigual número de repeticiones y la comparación de medias con la prueba DE Tuckey.

En los cuadros 8, 9, 10 y 11 se muestran los esquemas de los análisis de varianza empleados (cuadros 8, 9, 10 y 11).

Cuadro 8. ESQUEMA DEL ADEVA DE ACUERDO A LOS REPRODUCTORES

Fuente de variación	Grados de libertad
Tratamientos.	4
Error experimental	5486
Total	5490

Cuadro 9. ESQUEMA DEL ADEVA DE ACUERDO AL TIPO DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL.

Fuente de variación	Grados de libertad
Tratamientos.	1
Error experimental	5489
Total	5490

Cuadro 10. ESQUEMA DEL ADEVA SEGÚN LOS REFLUJOS A DIFERENTES TIEMPOS.

Fuente de variación	Grados de libertad
Tratamientos.	3
Error experimental	6269
Total	6272

Cuadro 11. ESQUEMA DEL ADEVA SEGÚN LOS REFLUJOS A DIFERENTES TIEMPOS Y EN VARIAS SECCIONES DEL APARATO REPRODUCTOR FEMENINO (PARA EL LARGO DE COLA).

Fuente de variación	Grados de libertad
Tratamientos.	6
Error experimental	7991
Total	7997

G. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

El presente trabajo evaluó la morfometría de los espermatozoides de cerdos de la línea Landrace x Large White de la Granja porcina La Fontana, Totana-Murcia, utilizándose 5 machos de fertilidad probada y 12 hembras.

Previo a la inseminación artificial se realizó un diagnóstico subjetivo para detectar los celos en la hembras a inseminar, luego se efectuó inseminaciones cervical y post-cervical, colocando bolsas de colostomía humana alrededor de la vulva de la cerda permitiendo que los reflujos se recolecten en las mismas en diferentes tiempos de 0 a 15 minutos, 16' a 30 minutos y de 31 a 60 minutos, que se recolectaron en tubos de ensayo con su respectiva identificación.

Además se realizó la laparotomía en un quirófano experimental transcurridas 24 horas tras la inseminación. Durante la cirugía se procedió al lavado del útero oviducto y unión útero-tubárica, para la recolección de los espermatozoides.

De las muestras recolectadas en los reflujos, del lavado del tracto genital obtenido tras las cirugías se procedió a realizar las extensiones de las muestras. Para ello se necesita del siguiente material:

- Portaobjetos.
- Micropipetas y puntas de micropipeta.
- Metanol.
- Caja de almacenaje para portaobjetos.
- Para la preparación del frotis, se colocan 10 μ l de la muestra de semen o reflujo obtenida en un portaobjetos y realizamos una extensión, dejamos secar durante 2 min aproximadamente y fijamos la muestra con metanol, dejamos secar otros 2 min y conservamos en la caja de almacenaje para portaobjetos.

Para la tinción de la muestra se requiere el siguiente equipamiento y material:

- Cabina de flujo laminar.
- Cubeta de tinción.
- Hematoxilina-eosina.
- Xilol.
- Alcohol de 70%, 96% y 100%.
- Agua destilada.
- Frasco lavador.
- Cubreobjetos (25 x 60mm).
- Pinzas.
- DPX (pegamento).
- Caja para portaobjetos.

La tinción se realizó mediante baño en alcohol absoluto durante 5 minutos, posterior tinción con hematoxilina (8 min), y lavado con agua destilada, tinción con eosina durante 1 minuto y lavado con agua y posterior deshidratación en alcoholes crecientes de 70% (5 min), 96% (5 min), y 100% (5 min), y finalmente aclarado con xilol (15 min), para terminar con montaje en cubreobjetos y pegado con DPX.

H. METODOLOGÍA DE EVALUACIÓN

El análisis de la morfometría de la cabeza se realizó en un programa de software del módulo de morfometría del analizador de semen “ISAS” (Sistema integrado de análisis de semen), del que se obtuvo los datos de longitud, anchura, área, perímetro, elipticidad, rugosidad, elongación y regularidad de la cabeza de los espermatozoides porcinos. El analizador se encuentra adaptado a un microscopio Nikon Eclipse E200.

El análisis de la cola (longitud), se realizó en un programa de software de calibración “ImageJ”, que transforma medidas de píxeles a micras.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A. MORFOMETRÍA DE LOS ESPERMATOZOIDES DE DIFERENTES REPRODUCTORES

Los resultados encontrados de las características morfométricas de los espermatozoides recolectados del reflujo seminal al inseminar a las cerdas, en función de los machos empleados se reportan en el cuadro 12, los mismos que se analizan a continuación.

1. Longitud de la cabeza, μm

La longitud de la cabeza de los espermatozoides presentaron diferencias altamente significativas por efecto de los cerdos de los cuales provenían, por cuanto los valores encontrados variaron entre 8,56 y 9,30 μm , que corresponden a los cerdos N° 3245 y N° 3104, que son los dos casos extremos.

Los resultados señalados comparados con otras investigaciones guardan relación en su mayoría, por cuanto Thurston, L. et al. (2001), observaron una media de $8,50 \pm 1,12 \mu\text{m}$ en cerdos jóvenes y de fertilidad comprobada, Quintero, A. et al. (2009), determinaron que los espermatozoides provenientes de cerdos mayores de 18 meses de edad presentaron una longitud 8,84 μm y en cerdos menores de 18 meses de edad. 8,95 μm ; de igual manera, González, D. et al (2008), encontraron que en verracos de alta fertilidad (>86%), los espermatozoides presentan una longitud de $8,97 \pm 0,02 \mu\text{m}$, así como Peña, F. et al, (2005), reportaron dimensiones de largo de $8,0 \pm 0,29 \mu\text{m}$; por lo que puede indicarse que la longitud del espermatozoide tiene gran importancia por cuanto, Maroto, A. (2012), reporta que aquellos espermatozoides con cabezas más pequeñas y elongadas nadan más rápido teniendo así más posibilidades de fecundar el ovocito. (gráfico 1).

Cuadro 12. COMPARACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS MORFOMETRÍA DE ESPERMATOZOIDES DE DIFERENTES REPRODUCTORES OBTENIDOS EN REFLUJOS A DIFERENTES TIEMPOS, DESPUÉS DE LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL (CERVICAL VS. POST-CERVICAL).

	Identificación del reproductor					
	Nº 3276	Nº 3104	Nº 3237	Nº 3223	Nº 3245	E.E. Prob.
Cabeza						
Longitud, µm	9,241 b	9,302 a	9,019 d	9,151 c	8,563 e	0,006 0,000
Ancho, µm	4,333 c	4,419 b	4,408 b	4,552 a	3,945 d	0,004 0,000
Area, µm²	34,370 b	35,132 a	33,889 c	35,200 a	29,152 d	0,043 0,000
Perímetro, µm	24,784 b	25,061 a	24,310 c	24,756 b	22,945 d	0,016 0,000
Elipticidad	2,136 b	2,108 c	2,049 d	2,013 e	2,174 a	0,002 0,000
Rugosidad	0,704 b	0,704 b	0,721 a	0,722 a	0,696 c	0,000 0,000
Elongación, µm	0,362 b	0,356 c	0,344 d	0,336 e	0,369 a	0,000 0,000
Regularidad	0,916 c	0,919 b	0,922 b	0,930 a	0,911 d	0,000 0,000
Cola						
Largo, µm	45,872 c	46,269 b	45,824 c	46,781 a	45,626 d	0,020 0,000

Prob. < 0,01: Existen diferencias altamente significativas.

Medias con letras diferentes difieren estadísticamente de acuerdo a la prueba de Tuckey.

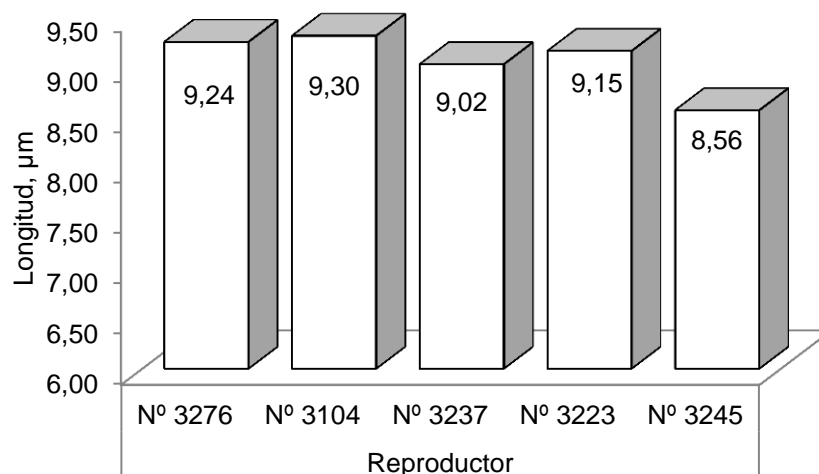


Gráfico 1. Longitud de la cabeza (μm), de los espermatozoides de diferentes reproductores porcinos.

2. Ancho de la cabeza, μm

Los anchos de las cabezas de los espermatozoides fueron diferentes estadísticamente ($P < 0,01$), presentando los menores valores los provenientes del cerdo N° 3245, con un ancho de $3,95 \mu\text{m}$, a diferencia de los obtenidos de los cerdos N° 3104 y N° 3223 que midieron $4,42$ y $4,55 \mu\text{m}$, respectivamente como se observa en el gráfico 2, que demuestra que entre estos animales puede existir diferencias en su fertilidad, ya que como se anotó, el tamaño de la cabeza tiene relación con la fertilidad, por cuanto los espermatozoides con cabeza pequeña tiene una mayor movilidad.

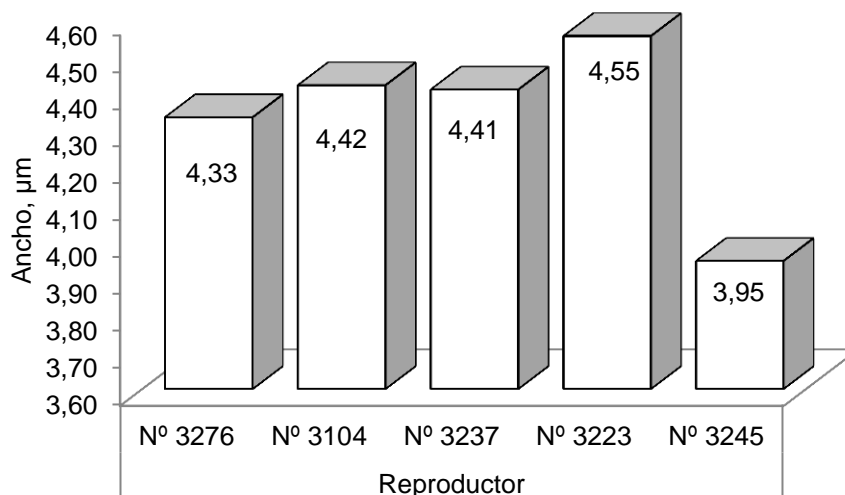


Gráfico 2. Ancho de la cabeza (μm), de los espermatozoides de diferentes reproductores porcinos.

El ancho de la cabeza de los espermatozoides determinados presentan pequeñas variaciones con varios estudios realizados, como los de, Thurston, L. et al. (2001), quienes reportaron una media de $4,62 \pm 0,95 \mu\text{m}$; Peña, F. et al. (2005), observó dimensiones de ancho $4,0 \pm 0,17 \mu\text{m}$; Quintero, A. et al. (2009), determinaron que los espermatozoides provenientes de cerdos mayores de 18 meses de edad presentan un ancho $4,32 \pm 0,009 \mu\text{m}$ y en cerdos menores de 18 meses de edad. $4,44 \pm 0,005 \mu\text{m}$; y, Morales, B. et al (2012), al evaluar 5,683 espermatozoides de semen recién recolectado determinó que sus cabezas tenían un ancho de $4,23 \pm 0,003 \mu\text{m}$, por lo que se concuerda con lo señalado por, Peña, F. et al. (2005), quienes indican en que es probable que esta variabilidad sea producto del proceso de espermatogénesis, donde el genotipo del cerdo determinará diferentes grados de maduración de cada espermatozoide y que se reflejan en la morfometría de la célula espermática.

3. Área de la cabeza, μm^2

Las dimensiones del área de las cabezas de los espermatozoides de los diferentes reproductores porcinos evaluados presentaron diferencias altamente significativas ($P < 0.01$), por cuanto estas fluctuaron entre 29.15 y 35.20 μm^2 , que corresponden a los de los cerdos N° 3245 y N° 3223, en su orden (gráfico 3),

siendo importante recalcar en que los espermatozoides con mayor longitud y área de la cabeza son los que tienen bajos valores de velocidad lineal y progresiva, lo que afectaría los índices de fertilidad, Gil, M., et al. (2009).

Sin embargo de las variaciones en los resultados obtenidos, estos concuerdan con varios reportes bibliográficos, por cuanto, Hirai, M. et al. (2001), manifiesta que en verracos de alta tasa de no retorno (>86%), los espermatozoides presentan un área de la cabeza de $35,1 \pm 0,02 \mu\text{m}^2$, en cambio, Peña, F. et al. (2005), determinaron un área de $27,5 \pm 1,12 \mu\text{m}^2$; Morales, B. et al (2012), establecieron que en el semen recién recolectado el área de la cabeza del espermatozoide fue de $31,30 \pm 0,04 \mu\text{m}^2$; y, González, D. et al (2008), establecieron un área de la cabeza $33,48 \pm 3,26 \mu\text{m}^2$, por lo que se considera que las dimensiones establecidas de los espermatozoides en el presente trabajo, están dentro de los parámetros considerados para un semen de alta fertilidad

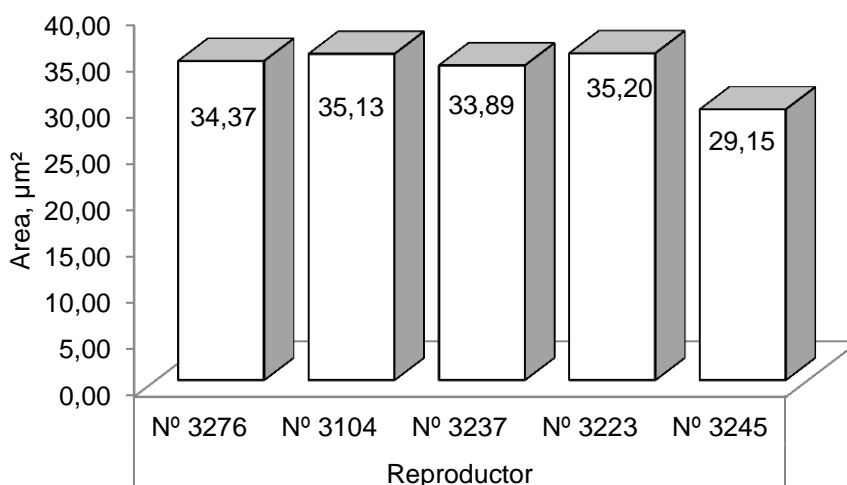


Gráfico 3. Área de la cabeza (μm), de los espermatozoides de diferentes reproductores porcinos.

4. Perímetro de la cabeza, μm

Las respuestas del perímetro de las cabezas de los espermatozoides presentaron diferencias altamente significativas ($P < 0,01$), por cuanto se encontraron perímetros de la cabeza de los espermatozoides desde $22,95 \mu\text{m}$ en el semen del reproductor N° 3245 a $25,06 \mu\text{m}$ en los provenientes del cerdo N° 3104 (gráfico 4),

por lo que estos guardan relación con el reporte de, Morales, B. et al (2012), quienes al estudiar 5,683 espermatozoides de semen recién recolectado, determinaron un perímetro de $22,36 \pm 0,02 \mu\text{m}$, en cambio, son inferiores respecto a, González, D. et al (2008), quienes establecieron en 1037 espermatozoides que el perímetro de la cabeza es de $29,54 \pm 1,98 \mu\text{m}$, así como con el trabajo de, Quintero, A. et al. (2009), quienes determinaron que los espermatozoides de cerdos mayores de 18 meses de edad presentan un perímetro de $26,33 \pm 0,04 \mu\text{m}$ y en cerdos menores de 18 meses de edad de $27,65 \pm 0,04 \mu\text{m}$, por lo que base a estas diferencias se puede indicar que el tamaño de la cabeza espermática pueden ser la causa de grandes diferencias en la hidrodinámica del espermatozoide menciona, Gomendio M, y Roldan E. (2008), y por extensión de grandes diferencias en la fertilidad según, Maroto, A. (2012), por cuanto se ha demostrado en diferentes especies, que los machos que presentaban en sus eyaculados espermatozoides con cabezas más grandes, eran menos fértiles que aquellos machos que presentaban menor proporción de estos espermatozoides, Hirai M, et al. (2001).

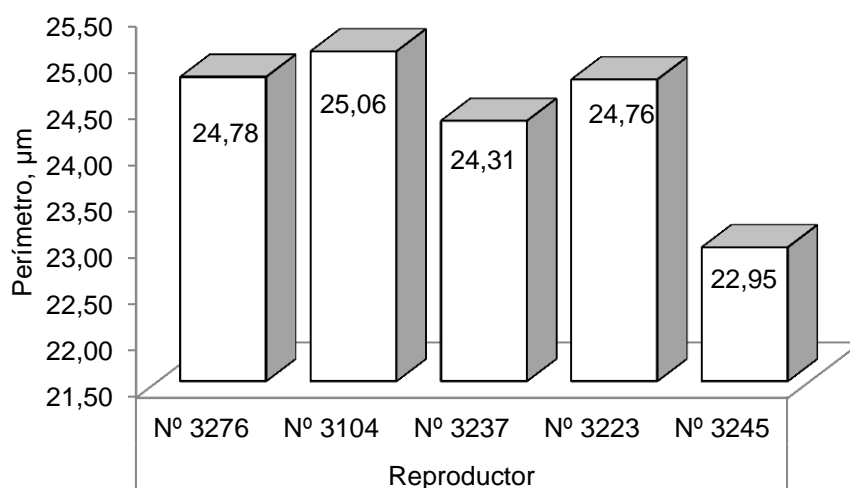


Gráfico 4. Perímetro de la cabeza (μm), de los espermatozoides de diferentes reproductores porcinos.

5. Elipticidad de la cabeza

Siendo la elipticidad, en geometría, es la medida de compresión de un círculo o esfera a lo largo de su diámetro para formar una elipse. Siendo la forma elíptica

característica de los espermatozoides, Evangelista, O. (2015); al analizar los resultados encontrados de la cabeza de los espermatozoides, se observaron variaciones altamente significativas ($P < 0,001$), con valores máximos de 2,05 en los espermatozoides provenientes del macho N°3237 hasta un mínimo de 2,01 del reproductor N° 3223 (gráfico 5), variaciones que numéricamente son pequeñas, sin embargo estadísticamente son diferentes, pero que demuestran que el largo del espermatozoide es dos veces que el ancho, es decir la elipticidad muestra una forma alargada y no redondeada, comportamiento que ratifica lo señalado por, Hidalgo, M. (2004), que señala que la elipticidad de la cabeza de los espermatozoides presenta valores de 2,01 a 2,02, siendo la forma elíptica característica de los espermatozoides.

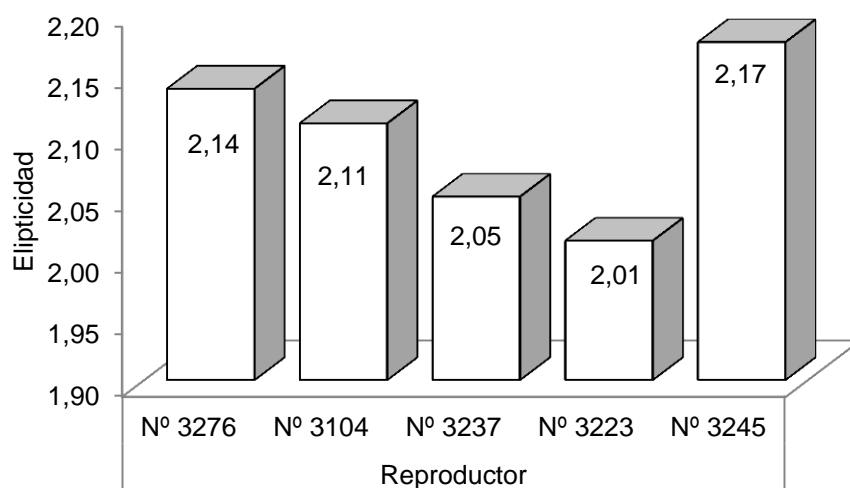


Gráfico 5. Elipticidad (forma), de la cabeza, de los espermatozoides de diferentes reproductores porcinos.

6. Rugosidad de la cabeza

La valoración de la rugosidad de las cabezas de los espermatozoides de diferentes reproductores porcinos registraron diferencias altamente significativas ($P < 0,01$), por cuanto los espermatozoides de los cerdos N° 3276, N° 3104 y N° 3245 fueron de 0,70, mientras que en los cerdos N° 3237 y N° 3223 fueron de 0,72 (gráfico 6), lo que determina que hay diferencias espermáticas entre animales, aunque estas respuestas guardan relación con el reporte de, Tejerina, F. (2007), quien determinó que la cabeza del espermatozoide de verraco tiene

una rugosidad de $0,71 \pm 0,02$, además, estos valores no pueden ser comparadas con resultados de la especie porcina por no existir reportes de estas medidas, ya que según, Castillo, V. (2012), diversas técnicas han sido empleadas en el estudio sobre la morfometría del espermatozoide en animales, sin embargo en las especies de animales domésticos, como la ovina y porcina no ha sido posible realizar el análisis morfométrico utilizando las técnicas actuales, por lo que, Buzón, A. (2013), indica que al establecer los parámetros morfométricos tras la evaluación objetiva de 40 eyaculados de sementales adultos equinos ($n = 10$), determinó que las cabezas de los espermatozoides presentaban una rugosidad de $0,73 \pm 0,00$, valor que se aproxima a las determinas en la especie porcina.

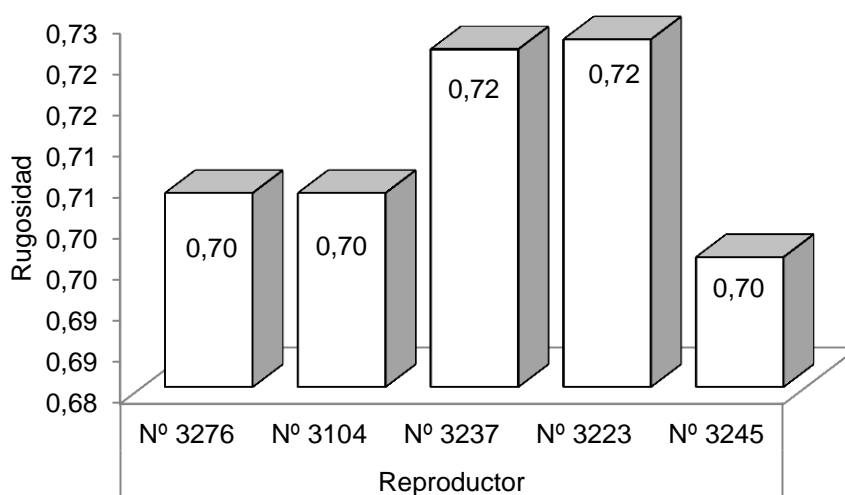


Gráfico 6. Rugosidad de la cabeza, de los espermatozoides de diferentes reproductores porcinos.

7. Elongación de la cabeza

La elongación, es un parámetro con relación al alargamiento de un cuerpo, que relaciona el largo con el ancho, Evangelista, O. (2015), por lo que las respuestas de los espermatozoides fueron diferentes estadísticamente ($p < 0,01$), registrándose valores desde 0,34 en los reproductores N° 3237 y N° 3223, que se elevó a 0,36 en los espermatozoides de los cerdos N° 3276 y N° 3104, y a 0,37 en el reproductor N° 3245, (gráfico 7). Tomando como referencia el estudio de, Tejerina, F. (2007), quien encontró que la cabeza del espermatozoide de verraco tiene una elongación de $0,34 \pm 0,02$, mientras que Morales, B. et al. (2012),

determinaron en 11,098 espermatozoides evaluados correspondientes a semen recién recolectado, que la cabeza de los espermatozoides presentaban una elongación de $0,32 \pm 0,0005$, resultados que son menores a los determinados en el presente trabajo, lo que demuestra que el semen utilizado presenta un alto índice de fertilidad, ya que según lo publicado en <http://www.madrimasd.org>. (2014), los cambios en la forma de la cabeza espermática inciden sobre la velocidad de natación: una mayor elongación de la cabeza mejora la eficiencia hidrodinámica de las células disminuyendo la resistencia que se opone al medio en el que nadan hasta encontrar el óvulo.

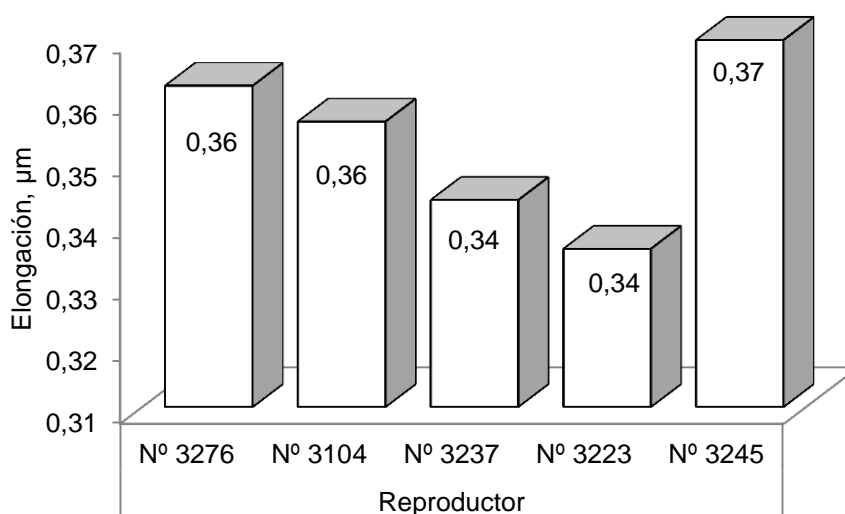


Gráfico 7. Elongación de la cabeza, de los espermatozoides de diferentes reproductores porcinos.

8. Regularidad de la cabeza

La regularidad, es el parámetro que relaciona el largo, ancho y área con la finalidad de definir si el cuerpo se aproxima a una forma geométrica no arbitraria, es decir, lo menos irregular posible, Evangelista, O. (2015), por lo que las respuestas determinadas en los espermatozoides evaluados mostraron diferencias altamente significativas ($P < 0,01$), a pesar de que numéricamente son semejantes, por cuanto los valores encontrados fluctuaron entre 0,91 en las cabezas de los espermatozoides del macho N°3245 a 0,93 del reproductor N°3223 (gráfico 8), valor que se asemeja al reportado por, Tejerina, F. (2007),

quién encontró que la cabeza del espermatozoide de verraco tiene una regularidad de $0,93 \pm 0,01$, valores que guardan relación también con la cabeza de los espermatozoides de equinos, por cuanto, Buzón, A. (2013), indica que al establecer los parámetros morfométricos tras la evaluación objetiva de 40 eyaculados de sementales adultos equinos), determinó que las cabezas de los espermatozoides presentaban una regularidad de $0,96 \pm 0,01$.

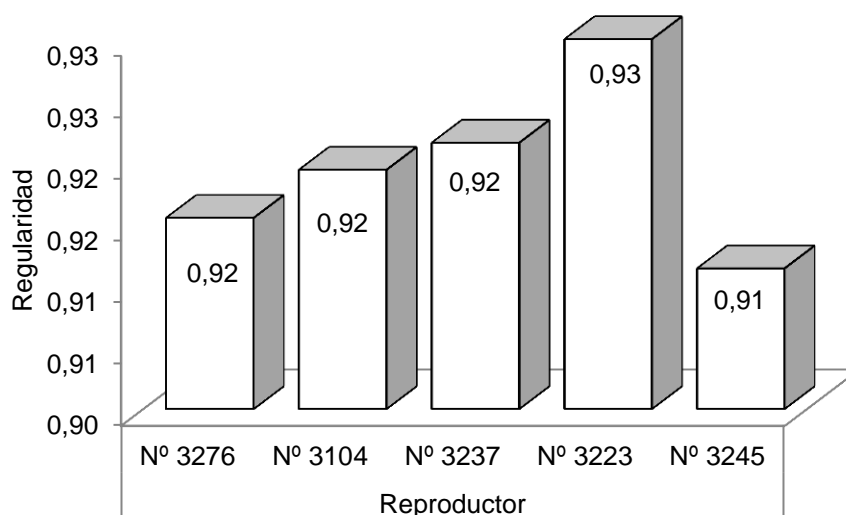


Gráfico 8. Regularidad de la cabeza, de los espermatozoides de diferentes reproductores porcinos.

9. Largo de la cola, μm

La longitud de la cola de los espermatozoides fue diferente estadísticamente ($P < 0,01$), por efecto del reproductor que procedía, presentando la cola más larga los espermatozoides del cerdo N°3223 con una longitud de $46,78 \mu\text{m}$, seguidos de los espermatozoides del reproductor N° 3104 con $46,27 \mu\text{m}$, mientras que los de menor longitud fueron en los espermatozoides del cerdo N° 3245 con $45,63 \mu\text{m}$ (gráfico 9), valores que concuerdan con, Luño, V. y Matas, C. (2010), quienes señalan que en el verraco, la longitud total de la cola del espermatozoide es de $43 \mu\text{m}$ y está conformada por tres secciones: la pieza media tiene una longitud de $10 \mu\text{m}$, la pieza principal $30 \mu\text{m}$ y la pieza terminal $3 \mu\text{m}$.

Humphries, S. et al. (2008), señalan que el espermatozoide del verraco tiene una

longitud de 60 μ que es más larga que las determinadas en el presente trabajo, pues si se suman la longitud de cabeza (9,15 μ m) y de la cola (46,78 μ m) se tendría en el mayor de los casos 55,93 μ m, aunque también sostienen que un pequeño tamaño y una velocidad lenta de natación implican que, en términos hidrodinámicos, los espermatozoides funcionan en un régimen muy diferente al que se está acostumbrado. A escala microscópica, aunque una cola más larga permite al espermatozoide generar más empuje, la resistencia creada por la cabeza del espermatozoide es frecuentemente suficiente como para contrarrestar dicha ventaja.

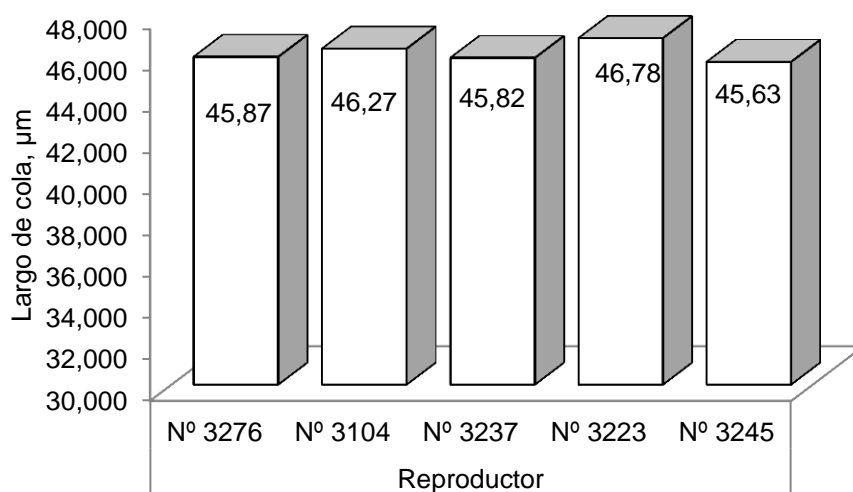


Gráfico 9. Largo de la cola (μ m), de los espermatozoides de diferentes reproductores porcinos.

B. MORFOMETRÍA DE LOS ESPERMATOZOIDES DE ACUERDO AL TIPO DE INSEMINACIÓN

Los resultados del análisis morfométrico de los espermatozoides recolectados de los reflujos post inseminación artificial realizadas a nivel cervical y post-cervical se reportan en el cuadro 13, donde se observa que existen diferencias altamente significativas en todos los parámetros considerados, presentando las respuestas más altas los espermatozoides recolectados tras la inseminación post-cervical, con relación a la inseminación a nivel cervical, como se señalan a continuación en las dimensiones de la cabeza: con longitudes de 9,05 frente a 8,90 μ m, en el ancho fueron de 4,30 vs 4,27 μ m, áreas de 33,33 y 32,57 μ m² y perímetros de 24,33 y

23,98 μm , en su orden siendo necesario indicar en estos parámetros lo que señalaron, Gil, M., et al. (2009), en que los espermatozoides con mayor longitud y área de la cabeza son los que tienen bajos valores de velocidad lineal y progresiva, lo que afectaría los índices de fertilidad.

Cuadro 13. CARACTERÍSTICAS DE LA MORFOMETRÍA DE ESPERMATOZOIDES OBTENIDOS EN REFLUJOS A DIFERENTES TIEMPOS, POR EFECTO DEL TIPO DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL (CERVICAL VS. POST-CERVICAL).

	Tipo de inseminación		E.E.	Prob.
	Post-cervical	Cervical		
Cabeza				
Longitud, μm	9,055 a	8,898 b	0,006	0,000
Ancho, μm	4,300 a	4,266 b	0,004	0,000
Área, μm^2	33,330 a	32,528 b	0,043	0,000
Perímetro, μm	24,332 a	23,977 b	0,016	0,000
Elipticidad	2,112 a	2,093 b	0,002	0,000
Rugosidad	0,707 b	0,710 a	0,000	0,000
Elongación, μm	0,357 a	0,352 b	0,000	0,000
Regularidad	0,919 a	0,918 b	0,000	0,000
Cola				
Largo, μm	45,93 b	46,06 a	0,020	0,001

E.E.: Error estándar.

Prob. < 0,01: Existen diferencias altamente significativas.

Medias con letras diferentes difieren estadísticamente de acuerdo a la prueba de Tuckey.

Con respecto a las características elipticidad, elongación y regularidad, se mantiene la misma tendencia, es decir respuestas más altas en los espermatozoides correspondientes a la inseminación post-cervical, aunque estas numéricamente parecerían iguales, ya que la elipticidad de las cabezas fueron de 2,11 y 2,09, la elongación de 0,357 vs 0,352 y una regularidad de 0,919 y 0,918, en cambio que en la rugosidad fueron de 0,710 con la inseminación cervical frente a 0,707 de la inseminación post-cervical, con el mismo comportamiento en la longitud de las colas de los espermatozoides, registrándose valores de 45,93 y 46,06 μm , cuando se aplicó las inseminaciones cervical y post-cervical, respectivamente; por lo que en base a estas respuestas se puede indicar que en las características morfométricas de los espermatozoides tiene influencia el tipo de inseminación aplicada, que en lo posterior estará representando ventajas, por

cuanto, Gil, J. (2007), señaló que cuando se aplica la inseminación cervical se requiere de dosis de 90 ml, mientras que en la post-cervical de 30 ml, existiendo una reducción del volumen de la dosis y de número de espermatozoides/dosis, propiciará una mayor utilización de verracos genéticamente superiores, entre otras ventajas notorias como se observa en el (gráfico 10).

c.

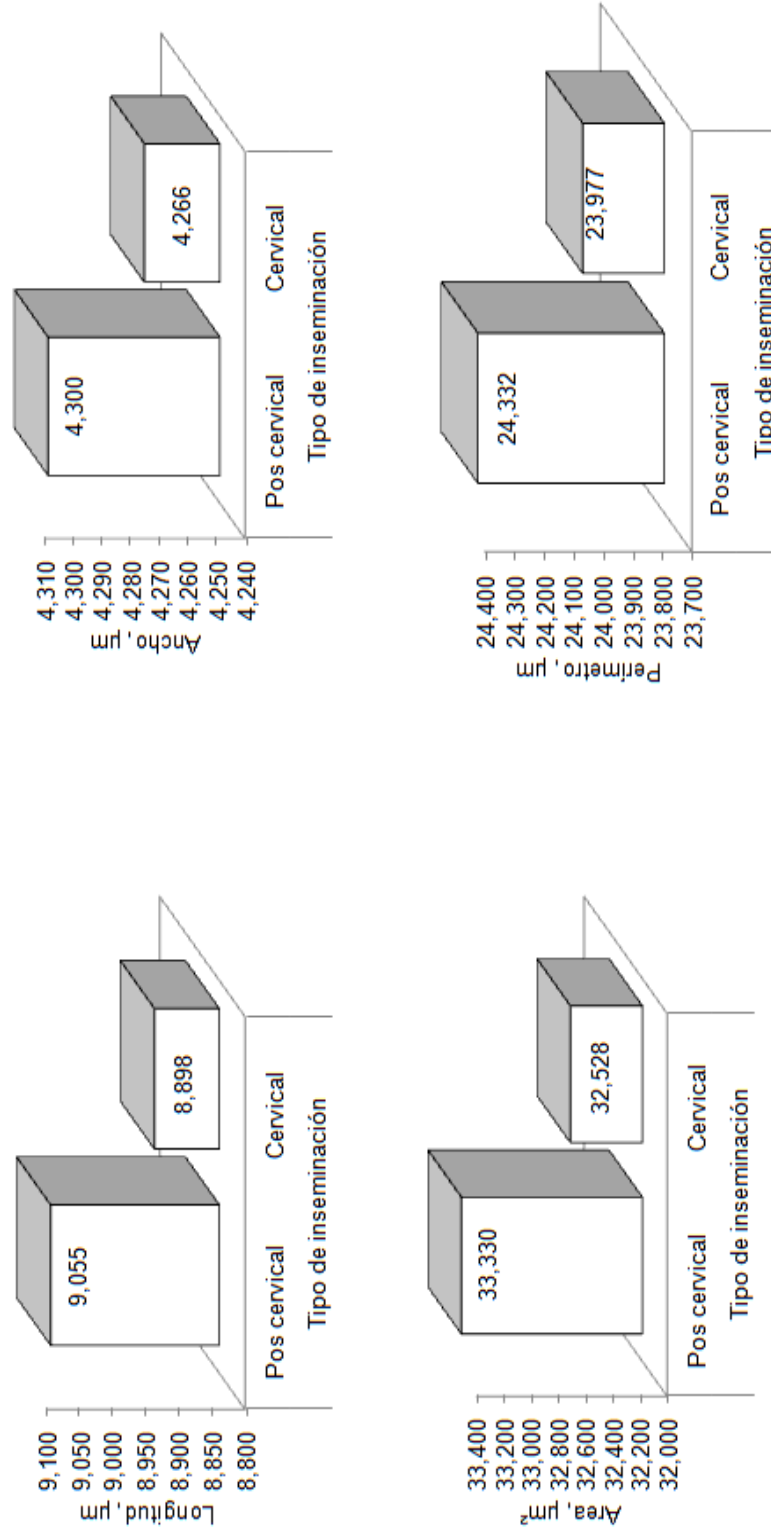


Gráfico 10. Características morfométricas de los espermatozoides porcinos por efecto de la aplicación de inseminación artificial cervical y post-cervical.

MORFOMETRÍA DE LOS ESPERMATOZOIDES EN LOS REFLUJOS A DIFERENTES TIEMPOS.

Los resultados del análisis de la morfometría de los espermatozoides recolectados en los reflujos a diferentes tiempos se reportan en el cuadro 14, pero es necesario tener en cuenta que según <http://www.microopticsl.com>. (2015), existe una enorme variabilidad en la morfometría de los espermatozoides, sin embargo varios estudios donde se han recuperado los espermatozoides en el tracto reproductor femenino, especialmente del moco endocervical poscoital, han ayudado a definir la forma de los espermatozoides con potencial capacidad de fertilización, es decir, espermatozoides morfológicamente normales.

1. Longitud de la cabeza, μm

La longitud de la cabeza presentó diferencias altamente significativas ($P < 0,01$), por efecto de los tiempos del reflujo, por cuanto se estableció que la longitud de la cabeza del espermatozoide es mayor en el semen fresco ($9,18 \mu\text{m}$), pero a medida que el tiempo transcurre en la recogida del reflujo esta se va reduciéndose, por cuanto hasta los 15 minutos fue de $9,00 \mu\text{m}$, de 16 a 30 minutos de $8,99 \mu\text{m}$ y entre los 31 a 60 minutos de $8,98 \mu\text{m}$ de longitud, (gráfico 11), sin embargo estos resultados concuerdan con los reportados por, Thurston, L. et al. (2001), quienes observaron una media de $8,50 \pm 1,12 \mu\text{m}$, así como con, Quintero, A. et al. (2009), que determinaron que los espermatozoides presentaron una longitud entre $8,84$ y $8,95 \mu\text{m}$; de igual manera, González, D. et al (2008), encontraron que una longitud de la cabeza de $8,97 \pm 0,02 \mu\text{m}$, por lo que se considera que todos tienen una alta capacidad fecundante.

2. Ancho de la cabeza, μm

El ancho de la cabeza de los espermatozoides por efecto de la recolección en diferentes tiempos de reflujo post inseminación artificial presentaron diferencias altamente significativas ($p < 0,01$), que determinan que a mayor tiempo para la recolección de los espermatozoides, el ancho de la cabeza se reduce, por cuanto en el semen fresco o dosis original el ancho de cabeza fue de $4,42 \mu\text{m}$, a los 15 -

Cuadro 14. COMPARACIÓN DE LA MORFOMETRÍA DE ESPERMATOZOIDES OBTENIDOS EN REFLUJOS A DIFERENTES TIEMPOS, DESPUÉS DE LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL (CERVICAL VS. POSCERVICAL).

	Tiempos de recolección del reflujo				E.E.	Prob.
	R1	R0-15	R16-30	R31-60		
Cabeza						
Longitud	9,182 a	9,004 b	8,994 b	8,979 b	0,0060	0,0000
Ancho	4,419 a	4,328 b	4,278 c	4,272 c	0,0036	0,0000
Area	34,527 a	33,268 b	32,994 bc	32,864 c	0,0392	0,0000
Perímetro	24,653 a	24,288 b	24,191 bc	24,127 c	0,0144	0,0000
Elipticidad	2,082 b	2,087 b	2,109 a	2,108 a	0,0016	0,0000
Rugosidad	0,714 a	0,708 b	0,708 b	0,708 b	0,0003	0,0000
Elongación	0,351 b	0,351 b	0,356 a	0,356 a	0,0003	0,0000
Regularidad	0,923 a	0,922 a	0,917 b	0,919 b	0,0003	0,0000

R1: Dosis original.

R0-15: Reflujo 0 - 15 min.

R16-30: Reflujo 16 - 30 min.

R31-60: Reflujo 31 a 60 min.

Prob. < 0,01: Existen diferencias altamente significativas.

Medias con letras diferentes difieren estadísticamente de acuerdo a la prueba de Tuckey.

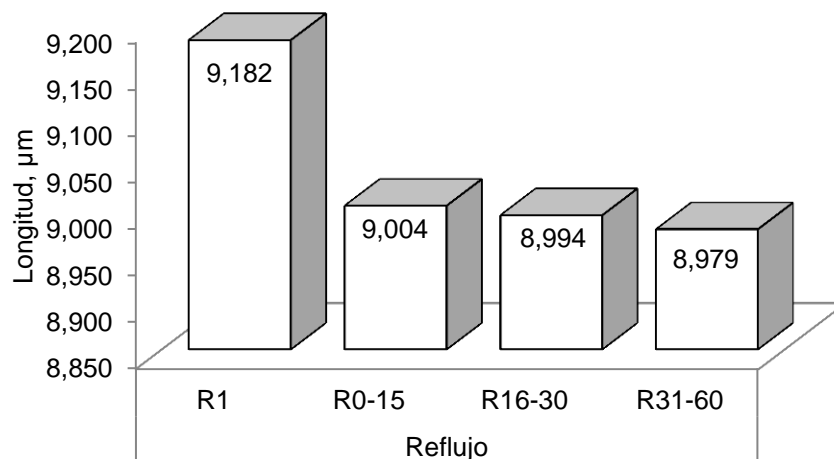


Gráfico 11. Longitud de la cabeza (μm), de los espermatozoides por efecto de la recolección en diferentes tiempos del reflujo post inseminación.

minutos de 4,33 μm , a los 30 minutos de 4,28 μm y de los 31 a 60 minutos de 4,27 μm (gráfico 12), valores que son inferiores respecto a trabajo de Thurston, L. et al. (2001), quienes reportaron una media de $4,62 \pm 0,95 \mu\text{m}$, pero son superiores con relación al estudio de Peña, F. et al. (2005), quienes encontraron dimensiones de ancho de $4,0 \pm 0,17 \mu\text{m}$; en cambio guardan relación con, Quintero, A. et al. (2009), que determinaron anchos entre $4,32 \pm 0,009$ y $4,44 \pm 0,005 \mu\text{m}$; pero que sin embargo demuestran que la longitud se reduce en función del tiempo de recolección.

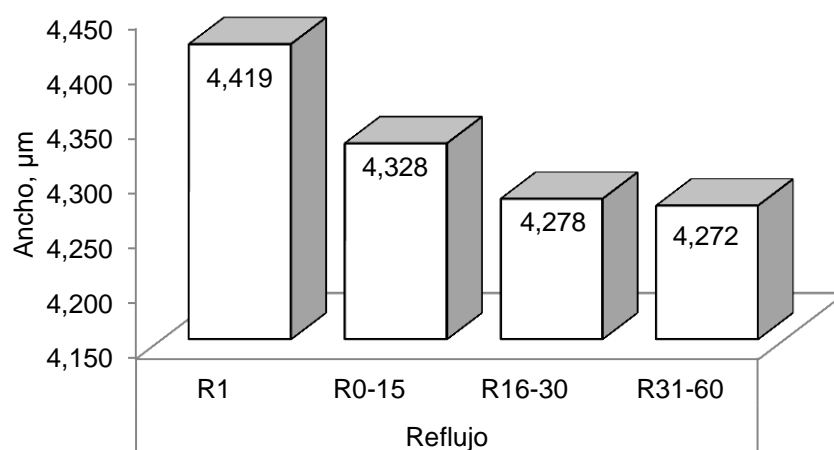


Gráfico 12. Ancho de la cabeza (μm), de los espermatozoides por efecto de la recolección en diferentes tiempos del reflujo post inseminación.

3. Área de la cabeza, μm^2

Las áreas de las cabezas de los espermatozoides recolectados en diferentes tiempos del reflujo post inseminación artificial presentaron diferencias altamente significativas ($P < 0,01$), determinándose de igual manera que ésta se reduce en función del tiempo transcurrido para su recolección, por cuanto de $34,53 \mu\text{m}^2$ en los espermatozoides de la dosis original, esta se reduce hasta $32,86 \mu\text{m}^2$ cuando se recolectó entre los 31 a 60 minutos pos inseminación artificial (gráfico 13), resultados que se aproximan a los señalados por, Hirai, M. et al. (2001), quien indica que los espermatozoides de los verracos presentan un área de cabeza de $35,1 \pm 0,02 \mu\text{m}^2$, pero guardan relación con los trabajos de Morales, B. et al (2012), que establecieron en el semen recién recolectado espermatozoide con una área de cabeza de $31,30 \pm 0,04 \mu\text{m}^2$; y, González, D. et al (2008), hallaron un área de $33,48 \pm 3,26 \mu\text{m}^2$, por lo que se considera que los espermatozoides del presente trabajo, sean considerados de alta fertilidad

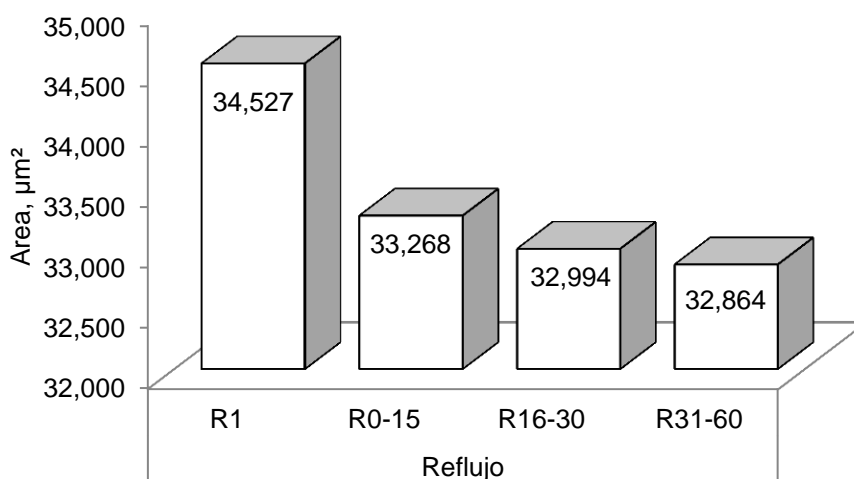


Gráfico 13. Área de la cabeza (μm^2), de los espermatozoides por efecto de la recolección en diferentes tiempos del reflujo post inseminación.

4. Perímetro de la cabeza, μm

Los perímetros de las cabezas difieren estadísticamente ($P < 0,01$), por cuanto las dimensiones de los espermatozoides variaron entre $24,13$ y $24,65 \mu\text{m}$, que pertenecen a los reflujos recolectados de los 31 a 60 minutos y los de las dosis

originales, como se observa en el gráfico 14, donde además se aprecia que a mayor tiempo para su recolección su perímetro se reduce, aunque estos valores son más altos que los que encontró, Morales, B. et al (2012), quienes al estudiar 5,683 espermatozoides de semen recién recolectado, determinaron un perímetro de $22,36 \pm 0,02 \mu\text{m}$, pero son inferiores respecto a, González, D. et al (2008), quienes establecieron en 1037 espermatozoides que el perímetro de la cabeza es de $29,54 \pm 1,98 \mu\text{m}$, sin embargo debe tomarse en cuenta el reporte de Hirai M, et al. (2001), que señalan que los machos que presentaban en sus eyaculados espermatozoides con cabezas más grandes, eran menos fértiles que aquellos machos que presentaban espermatozoides con cabezas pequeñas.

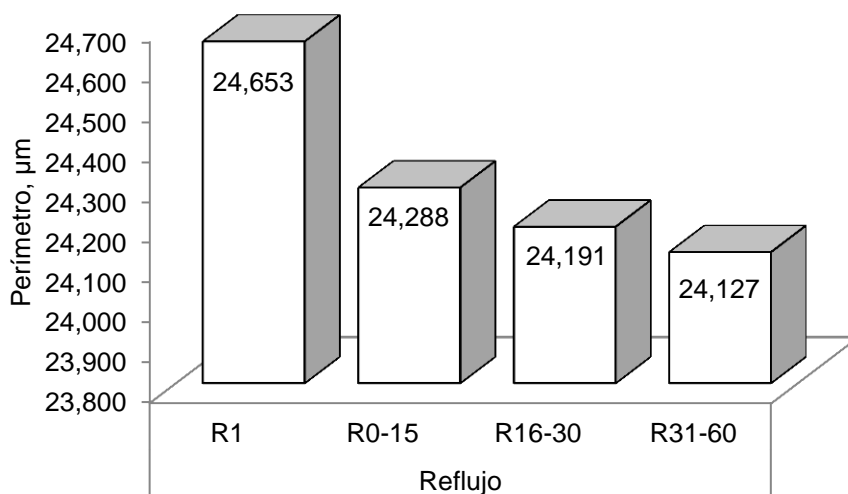


Gráfico 14. Perímetro de la cabeza (μm), de los espermatozoides por efecto de la recolección en diferentes tiempos del reflujo post inseminación.

5. Elipticidad de la cabeza

A diferencia de los parámetros anteriores, la elipticidad de las cabezas de los espermatozoides en vez de reducirse, esta característica se incrementa en función del tiempo de recolección, por cuanto estos variaron de 2,08 en los espermatozoides de la dosis inicial a 2,11 cuando se recolectaron entre 16 a 60 minutos pos inseminación (gráfico 15), existiendo diferencias altamente significativas entre estos valores, pero que sin embargo en todos los casos muestran una forma alargada y no redondeada (por ser más largos que anchos), que comparados con el reporte de, Hidalgo, M. (2004), se consideran que estas medidas son mayores,

por cuanto este investigador indica que la elipticidad de la cabeza de los espermatozoides presenta valores de 2,01 a 2,02, siendo la forma elíptica característica de los espermatozoides.

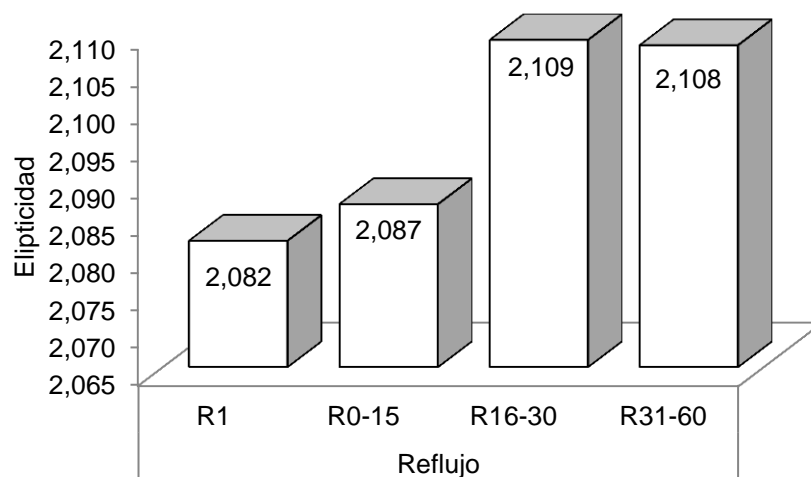


Gráfico 15. Elipticidad de la cabeza de los espermatozoides por efecto de la recolección en diferentes tiempos del reflujo post inseminación.

6. Rugosidad de la cabeza

La rugosidad de la cabeza de los espermatozoides de las dosis originales difieren estadísticamente ($P < 0,01$), con las determinadas en los espermatozoides recogidos de los diferentes. (gráfico 16).

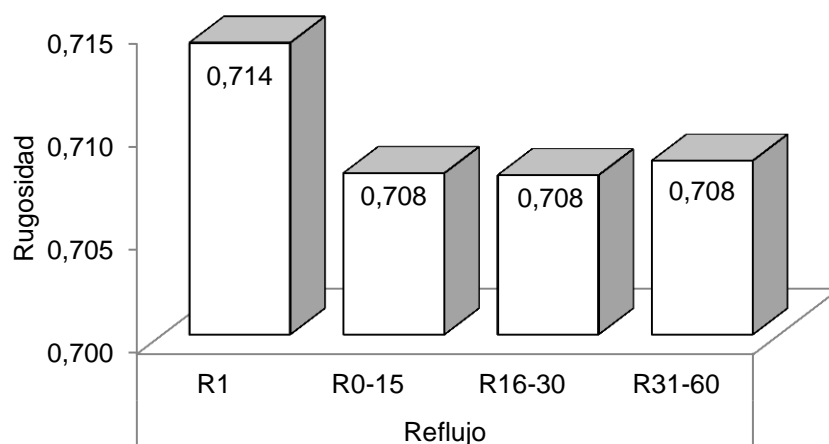


Gráfico 16. Rugosidad de la cabeza de los espermatozoides por efecto de la recolección en diferentes tiempos del reflujo post inseminación.

por cuanto los valores encontrados fueron de 0,714 y 0,708, correspondiéndole este último a los diferentes tiempo de reflujo; pero a pesar de las diferencias estadísticas entre estos valores estrechos, los mismos guardan relación con el trabajo de Tejerina, F. (2007), quien determinó que la cabeza del espermatozoide del verraco tiene una rugosidad de $0,71 \pm 0,02$.

7. Elongación de la cabeza, μm

Los valores de la elongación de las cabezas de los espermatozoides fluctuaron entre 0,351 y 0,356 que estadísticamente son diferentes ($P < 0,01$), por efecto de la recolección en diferentes tiempos de reflujo post inseminación y que corresponden en el primer caso a los espermatozoides de las dosis originales y las recogidas hasta los 16 minutos pos inseminación y en el segundo caso en los reflujos entre los 16 a 60 minutos (gráfico 17), pero estas respuestas guardan relación con el trabajo de, Tejerina, F. (2007), quien encontró que la cabeza del espermatozoide tiene una elongación de $0,34 \pm 0,02$, a diferencia del estudio de, Morales, B. et al. (2012), que determinaron una elongación de $0,32 \pm 0,0005$, sin embargo se puede considerar que con una mayor elongación de la cabeza se mejora la eficiencia hidrodinámica de las células disminuyendo la resistencia que se opone al medio en el que nadan hasta encontrar el óvulo, <http://www.madrimasd.org>. (2014).

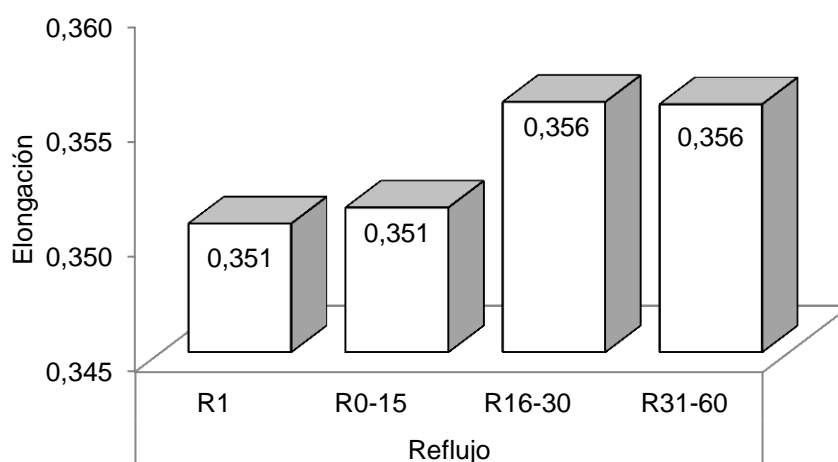


Gráfico 17. Elongación de la cabeza de los espermatozoides por efecto de la recolección en diferentes tiempos del reflujo post inseminación.

8. Regularidad de la cabeza

La regularidad de las cabezas varió entre 0,917 en los espermatozoides recolectados entre los 16 y 30 minutos a 0,923 en los espermatozoides de las dosis originales (gráfico 18), que estadísticamente son diferentes ($P < 0,01$), lo que demuestra que el tiempo de recolección de los reflujos inciden directamente en la regularidad de las cabezas de los espermatozoides, sin embargo, se aproximan a los determinados por, Tejerina, F. (2007), quién estableció que la cabeza del espermatozoide del verraco tiene una regularidad de $0,93 \pm 0,01$ y que se considera altamente fecundante.

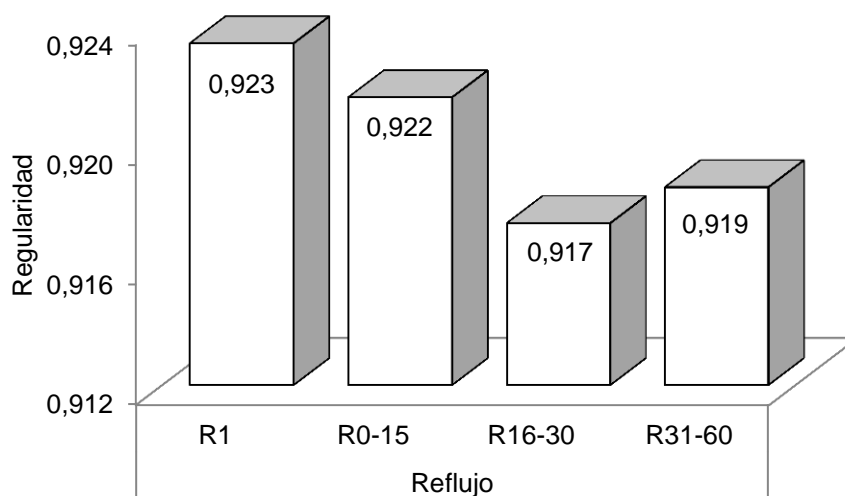


Gráfico 18. Regularidad de la cabeza de los espermatozoides por efecto de la recolección en diferentes tiempos del reflujo post inseminación.

9. Largo de la cola, μm

Las longitudes de las colas de los espermatozoides por efecto de los diferentes tiempos en que se recolectó los reflujos (0 a 15, 16 a 30 y 31 a 60 minutos), así como de los lavados de diferentes tramos del aparato reproductor femenino (útero, oviductos y unión útero-tubárica), obtenidas pos cirugía de cerdas inseminadas artificialmente 24 horas antes (cuadro 15), presentaron diferencias altamente significativas ($P < 0,01$), presentando las mayores longitudes de colas los espermatozoides de las dosis originales, así como de los obtenidos en los reflujos hasta los 15 minutos, que presentaron valores de 46,84 y 46,41 μm ,

respectivamente, por el contrario, las colas menos largas se determinaron en los espermatozoides recolectados del lavado uterino así como del lavado útero-tubárica, con longitudes de 45,65 y 45,87 μm , lo que demuestra que la cola de los espermatozoides sufren cambios considerables desde la condición inicial o semen fresco hasta cuándo se ha mantenido en el tracto femenino, sin conocerse las causas de por qué se reducen su cola, sin embargo de que se considera que el espermatozoide mantiene su capacidad fecundante.

Cuadro 15. LARGO DE LA COLA DE ESPERMATOZOIDES OBTENIDOS EN REFLUJOS A DIFERENTES TIEMPOS Y EN VARIAS SECCIONES DEL APARATO REPRODUCTOR FEMENINO, DESPUÉS DE LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL (CERVICAL VS. POST-CERVICAL).

Tratamiento	Media	
Dosis original	46,8373	a
Reflujo 0 - 15 min	46,4120	ab
Reflujo 16 - 30 min	46,0187	bcd
Reflujo 31 a 60 min	45,8309	cd
Lavado oviducto	46,2161	bc
Lavado uterino	45,6476	d
Lavado útero-tubárica	45,8691	cd
Error estándar	0,0162	
Prob.	0,0000	

Prob. < 0,01: Existen diferencias altamente significativas.

Medias con letras diferentes difieren estadísticamente de acuerdo a la prueba de Tuckey.

Las respuestas encontradas tienden a ser superiores a los valores determinados por, Luño, V. y Matas, C. (2010), quienes señalan que en el verraco, la longitud total de la cola del espermatozoide es de 43 μm , se observa en el (gráfico 19), aunque, Humphries, S. et al. (2008), reportan que una cola más larga permite al espermatozoide generar más empuje, pero la resistencia creada por la cabeza del espermatozoide es frecuentemente como para contrarrestar dicha ventaja con relación a los espermatozoides que tengan cola pequeña.

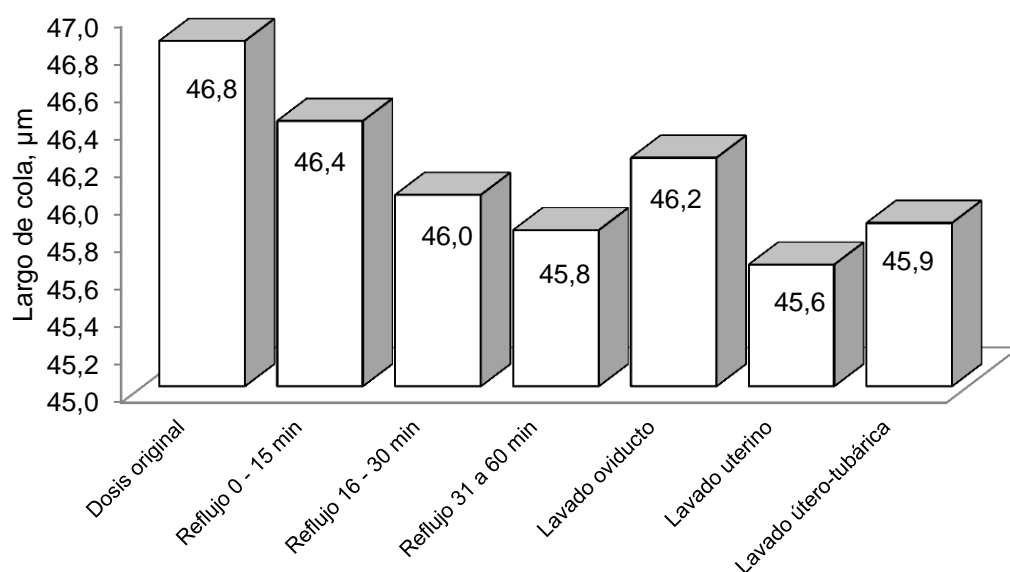


Gráfico 19. Longitud de cola (μm), de los espermatozoides por efecto de la recolección en diferentes tiempos del reflujo post inseminación y de los lavados de diferentes tramos del aparato reproductor femenino.

V. CONCLUSIONES

- La morfometría de los espermatozoides sufrieron cambios estadísticos por efecto de los reproductores evaluados, presentando cabezas con menores dimensiones en longitud (8,56 μm), ancho (3,95 μm), área (29,15 μm^2), perímetro (22,95 μm) y cola (45,63 μm), los espermatozoides del cerdo N° 3245, ya que sus menores dimensiones incrementan los índices de fertilidad, por cuanto los espermatozoides con cabeza pequeña tiene una mayor movilidad. De igual manera, presentó espermatozoides con mejor elipticidad (2,17), mayor elongación (0,37) y menor rugosidad (0,70).
- Por efecto de la inseminación artificial realizadas a nivel cervical y post-cervical se encontró que existen diferencias altamente significativas en todos los parámetros considerados, presentando respuestas más altas los espermatozoides recolectados tras la inseminación post-cervical, con relación a la inseminación a nivel cervical.
- El tiempo de recolección del reflujo pos inseminación influyo estadísticamente en los parámetros morfométricos, determinándose que a medida que el tiempo transcurre en la recogida del reflujo, las medidas morfométricas se reducen con respecto a la dosis original (semen fresco), así las dimensiones de las cabezas comparadas con los reflujos entre 31 y 60 minutos fueron: en la longitud de 9,18 y 8,98 μm , ancho 4,42 vs 4,27 μm , área 34,53 μm^2 frente a 32,86 μm^2 y perímetro de 24,65 y 24,13 μm , respectivamente.
- Las longitudes de las colas de los espermatozoides por efecto de la recolección en diferentes tiempos del reflujo post inseminación y de los lavados de diferentes tramos del aparato reproductor femenino, presentaron diferencias estadísticas, siendo mayores longitudes en los espermatozoides de las dosis originales (46,84 μm), a diferencia de los recolectados del lavado uterino (45,65 μm).

VI. RECOMENDACIONES

En base a los resultados obtenidos de las características morfométricas de los espermatozoides porcinos, pueden realizarse las siguientes recomendaciones:

- Emplear el semen del reproductor N° 3245, por presentar menores dimensiones de las cabezas de los espermatozoides, pero que se considera como ventaja, ya que los espermatozoides con cabeza pequeña tiene una mayor movilidad y posiblemente mejores índices de fertilidad.
- Aplicar la inseminación artificial post-cervical, por cuanto propicia una reducción del volumen de la dosis y de número de espermatozoides/dosis, propiciará una mayor utilización de verracos genéticamente superiores, a pesar de que las dimensiones de los espermatozoides recolectados presentan mayores dimensiones que con la inseminación cervical, pero en ambos casos se consideran que los espermatozoides tienen un alto poder fecundante.
- Replicar el presente trabajo en el Ecuador, para poder determinar las características morfométricas de los espermatozoides de los cerdos que se utilizan como reproductores en las diferentes explotaciones porcícolas, para crear una base científica y poder establecer si estos tienen una relación directa con la fertilidad de las cerdas.

VII. LITERATURA CITADA

1. AGROBIT.COM. 2012. Inseminación artificial en cerdas. Disponible en http://www.agrobit.com/Info_tecnica/Ganaderia/insem_artif/GA000001in.htm.
2. ÁLVAREZ, C. 2003. Análisis integrado de la morfología y movilidad espermática humana con el uso del Sperm Class Analyser. Tesis Doctoral. Universidad de Valencia. Facultad de Ciencias Veterinarias. Valencia, España. p 174.
3. AMANN, R. Y KATZ, D. 2004. Reflections on CASA after 25 years. J. Androl., 25. pp 317-325.
4. AMANN, R. Y SCHANBACHER, B. 1983. Physiology male reproduction. J. Anim. Sci. 57, Suppl. 2. pp 380-403.
5. ARIAS, D. 2000. El cerdo Sinda colombiano. In: V Congreso Iberoamericano de Razas Autóctonas y Criollas. La Habana, p 267
6. AUGER, J. 2010. Assessing human sperm morphology: top models, underdogs or biometrics? Asian J Androl;12. pp 36-46.
7. BARTH, A. Y OKO, R. 1989. Normal of frozen bovine by the veterinary practitioner. Theriogenology of bovine spermatozoa. Iowa St Univ. Press, Ames, Iowa USA. Chap. 3. pp 19-88.
8. BONET, S., BRIZ, M., PINART, E., SANCHO, S., GARCÍA, N. Y BADIA, E. 2000. Morfología espermática en porcinos. Editorial Instituto de Estudios Catalanes. Barcelona, España. p 124 .
9. BROEKHUIJSE, M., ŠOŠTARIĆ, E., FEITSMA, H. AND GADELLA, B. 2012. The value of microscopic semen motility assessment at collection for a commercial artificial insemination center, a retrospective study on

factors explaining variation in pig fertility. *Theriogenology* 77(7). pp1466-1479

10. BUENDÍA, P., SOLER, F., PAOLICCHI, G., GAGO, B., URQUIETA, F. AND BUSTOS, E. 2002. Morphometric characterization and clasification of alpaca sperm heads using the Sperm Class Analyser computer assisted system. *Theriogenology*. 57. pp 1207- 1218.

11. BUZÓN, A. 2013. Análisis cinético y morfométrico del espermatozoide del caballo empleando el sistema Sperm Class Analyzer. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria, Universidad de Córdoba. España. Disponible <http://helvia.uco.es/xmlui/bitstream/handle/10396/11586/2014000000902.pdf?sequence=1>.

12. CASAS, I., SANCHO, S., BRIZ, M., PINART, E. AND BONET, S. 2010. Fertility alter post-cervical artificial insemination with cryopreserved sperm from boar ejaculates of good and poor freezability. *Anim Reprod Sci* 2010;118(1). pp 69-76.

13. CASEY, P., GRAVANCE, C., DAVIS, R., CHABOT, D. AND LIU, I. 1997. Morphometric differences in sperm head dimensions of fertile and subfertile stallions. *Theriogenology* 1997;47. pp 575-582.

14. CASTILLO, V. 2012. Desarrollo de un método de referencia basado en el método isas y análisis de imágenes para la evaluación morfométrica del acrosoma del espermatozoide en la especie ovina. Tesis de grado. Ingeniería Técnica Agrícola, Universidad de Zaragoza, España. Disponible en <http://invenio2.unizar.es/record/7200/files/TAZ-PFC-2012-217.pdf>.

15. CHANDLER, J., PAINTER, C., ADKISON, R., MEMON, M. AND HOYT, P. 1988. Semen quality characteristics of dairy goats. *J Dairy Sci* 1988;71. pp 1638-1646.

16. CHENOWETH, P. 1997. Clinical reproductive anatomy and physiology of the bull. En: Youngquist: Current therapy in large animal Theriogenology. Saunders, lth Edition. p 217 .
17. DE ALBA, C. 2011. La inseminación intrauterina en cerdos: beneficios y riesgos. Minitub Ibérica S.L. Tarragona, España. Disponible en <http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4348202>.
18. EVANGELISTA, O. 2015. Caracterización morfométrica de los espermatozoides en alpacas macho (Vicugna pacos) de fertilidad comprobada. Tesis de Grado. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Perú. Disponible en http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/4024/1/Evangelsita_vo.pdf en
19. FRANCO, J. 2010. Inseminación Artificial. Disponible en: <http://agronica.udea.edu.co/talleres/Produccion%20porcina/Jorge%20Franco/inseminacion%20artificial%20en%20porcinos.pdf>.
20. FRUNZA, I., CERNESCU, H. AND KORODI, G. 2008. Physical and Chemical parameters of boar sperm. Lucrari Stiintifice Medicina Veterinaria Vol. XLI, Timisoara
21. GADEA, J. 2005. Sperm factors related to in vitro and in vivo porcine fertility. Theriogenology 63. pp 431-444.
22. GIL, J. 2007. Inseminación artificial en porcino según el punto de deposición de la dosis seminal. Disponible en: http://www.3tres3.com/losexpertos-opinan/inseminacion-artificial-en-porcino-segun-el-punto-de-deposicion_1973/
23. GIL, J., TORTADES, J. AND ALEVIA, A. 2002. Post cervical insemination use of different volumes and sperm number. Proceedings 17th IPVS Congress. June 2-5; Ames, Iowa. 2002. p 229.

24. GIL, M., GARCÍA, M., BARÓN, F., APARICIO, I., SANTOS, A. AND GARCÍA, L. 2009. Morphometry of porcine spermatozoa and its functional significance in relation with the motility parameters in fresh semen. *Theriogenology* 2009;71. pp 154-163.

25. GOMENDIO, M. Y ROLDAN, E. 2008. Implications of diversity in sperm size and function for sperm competition and fertility. *Int J Dev Biol* 2008;52. pp 439-447.

26. GONZÁLEZ, D. 2008. Evaluación de los parámetros morfométricos de los espermatozoides como herramienta para determinar la calidad seminal de machos porcinos. Universidad del Zulia. Facultad de Ciencias Veterinarias. pp 26 – 35. Disponible en http://tesis.luz.edu.ve/tb_acen_inv/tde_busca/archivo.php?codArchivo=317

27. GONZÁLEZ, D., QUINTERO, J., GARDE, M., ESTESO, M., FERNÁNDEZ, J., RUBIO, W., MEJÍA, Y., GONZÁLEZ, G. Y BOHÓRQUEZ, R. 2008. Caracterización morfométrica de la cabeza del espermatozoide porcino mediante análisis computarizado (resultados preliminares). *Revista Científica, FCV-LUZ*. XVIII (5). pp 570-577.

28. GRAVANCE, C., GARNER, D., PITT, C., VISHWANATH, R., SAX, S. AND CASEY, P. 1999. Replicate and technician variation associated with computer aided bull sperm head morphometry analysis (ASMA). *Int J Androl* 22. pp 77-82.

29. HAFEZ, B. 2003. *Reproduction in farm animals*. 8th edition, Baltimore/USA. P p 509.

30. HENAO, G., TRUJILLO, E., BURITICÁ, M., SIERRA, C., CORREA, G. Y GONZÁLEZ, O. 2004. Efecto del clima sobre las características seminales de porcinos en una zona de bosque húmedo tropical. *Rev. Fac. Nac. Agr. Medellín* vol.57 no.2 Medellín July/Dec.

31. HIDALGO, M. 2004. Estudio del efecto de la congelación-descongelación sobre los parámetros morfométricos del espermatozoide de macho cabrío. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria, Universidad de Córdoba España. Disponible en <http://helvia.uco.es/xmlui/bitstream/handle/10396/345/13208755.pdf?sequence=1>

32. HIDALGO, M., RODRÍGUEZ, I., DORADO, J., SANZ, J. Y SOLER, C. 2005. Effect of sample size and staining methods on stallion sperm morphometry by the Sperm Class Analyzer. Vet. Med Czech. 50. pp 24-32.

33. HIRAI, M., BOERSMA, A., HOEFLICH, A., WOLF, E., FOLL, J., AUMÜLLER, T., BRAUN, J. 2001. Objectively measured sperm motility and sperm head morphometry in boars (*Sus scrofa*): relation to fertility and seminal plasma growth factors. J Androl 2001;22. pp 104-110.

34. HOFLACK, G., RIJSSELAERE, T., MAES, D., DEWULF, J., OPSOMER, G., DE KRUIF, A., VAN SOOM, A. 2005. Validation and usefulness of the Sperm Quality Analyzer (SQA-IIC) for bull semen analysis. Reprod. Dom. Anim., 40. pp 237-244.

35. <http://albeitar.portalveterinaria.com>. 2004. Inseminación Artificial Post Cervical. Disponible en <http://albeitar.portalveterinaria.com/noticia/3409/articulos-porcino-archivo/inseminacion-artificial-post-cervical.html>.

36. <http://www.fao.org>. 2015. Inseminación Artificial Porcina: Ventajas y desventajas. Proyecto: TCP/CUB/3402. Disponible en [http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/faoweb/cuba/docs/Inseminacion artificialventajas_desventajas.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/faoweb/cuba/docs/Inseminacion_artificialventajas_desventajas.pdf).

37. <http://www.madrimasd.org>. 2014. Forma, función y fertilidad de los espermatozoides. Disponible en <http://www.madrimasd.org/canales/salud-biomedicina/analisis/forma->

funcion-y-fertilidad-de-los-espermatozoides.

38. <http://www.micropticsl.com>. 2015. Morfología. Disponible en <http://www.micropticsl.com/es/productos/sca-sistema-casa/modulos-de-analisis/sca-morfologia/>.
39. HUMECO, J. 2014. Morfología espermática. Disponible en <http://www.humeco.net/fotosbd//Ficheros%20PDF/Laboratorio%20Biologico.pdf>.
40. HUMPHRIES, S., EVANS, J. AND SIMMONS, L. 2008. Sperm competition: linking form to function. BMC Evolutionary Biology 2008, 8:319 25 NOV 2008. Disponible en <http://www.agenciasinc.es/Noticias/El-tamano-de-los-espermatozoides-no-es-lo-mas-importante>
41. HUNG, Y., LING, L., HWA, S. AND SHUH, T. 2010. Age-related changes in semen quality characteristics and expectations of reproductive longevity in Duroc boars. Animal Science Journal. Vol. 81 (4). pp 432-437.
42. JANUSKAUSKAS, A., JOHANNISSON, A., SODERQUIST, L. AND RODRIGUEZ, H. 2000. Assessment of sperm characteristics post-thaw and responde to calcium ionophore in relation to fertility in Swedish dairy AI bulls Theriogenology. 53. pp 859-875.
43. KING, G. AND MACPHERSON, J. 2005. Alkaline and Acid Phosphatase Activity, pH and Osmotic Pressure of Boar Semen, Comp.Med. Vet. Sci., 30. pp 304-307
44. KUBUS. 2011. Manual Práctico para Profesionales: Biotecnología Veterinaria: Inseminación artificial porcina: como ganar eficiencia con la reproducción de tu ganado porcino. 3ed. Madrid, ES. Mainzer Producción Gráfica. p 122 .
45. LLAMAS, P. 2012. Puntos críticos y fallos frecuentes en la inseminación post-cervical porcina. Depto.. Tec.Import-Vet S.A.

Universoporcino.com.

46. LOAIZA, Y. 2014. Manual de inseminación. Centro Multigenético de Inseminación Artificial para Cerdos. El Oro, Ecuador. Disponible en <http://porcinamilagro.com/descargas>.
47. LUÑO, V. Y MATAS, C. 2010. Cambios en el espermatozoide desde la eyaculación hasta la fecundación. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza. Disponible en <http://www.um.es/grupo-fisiovet>.
48. MADRID, N. 2004. Relación entre los métodos de valoración seminal in vitro and la fertilidad in vivo del semen descongelado de toros frisonos. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid. p 164.
49. MAKLER, A., MACLUSKY, N., CHODOS, A., HASELTINE, F., DECHERNEY, A. 1984. Rapid microcomputer-based analysis of semen characteristics from photographs taken by the MEP method rapid microcomputer. Arch. Androl., 12. pp 91-95.
50. MALO, A., GARDE, J., SOLER, A., GARCÍA, A., GOMENDIO, M., ROLDAN, E. 2005. Male fertility in natural populations of red deer is determined by sperm velocity and the proportion of normal spermatozoa. Biol Reprod 2005; 72. pp 822-829.
51. MARCHESI, M. AND CESARINI, F. 2012. Effect of nutrition on boar semen quality. IPVS
52. MAROTO, A. 2012. Evaluación objetiva de la morfometría de los espermatozoides de ovino (*Ovis aries*). Relaciones con la fertilidad. Tesis Doctoral. Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos. Universidad De Castilla-La Mancha. Albacete, España. pp 17 – 30. Disponible en http://www.uclm.es/irec/Ecologia/pdf/repro_tesis/Tesis%20Doctoral%20Alejandro%20Maroto%20Morales.pdf.

53. MARTÍNEZ, E., VAZQUEZ, J., ROCA, J., LUCAS, X., GIL, M., PARRILLA, I., VAZQUEZ, J., DAY, B. 2001. Successful non-surgical deep intrauterine insemination with small numbers of spermatozoa in sows. *Reproduction* 2001; 122. pp 289-296.
54. MAZZARRI, G., FUENTES, A. Y VALLE, A. 1986. Frecuencia de recolección de semen en verracos y su relación con la fertilidad. *Zootecnia trop.*, 4(1 y 2). pp 79-88.
55. MESTRE, C. 2005. Análisis de la morfología de los espermatozoides. Disponible en <http://www.reproduccionasistida.org/analisis-de-la-morfologia-de-los-espermatozoides/>
56. MORALES, B. 2010. Valoración de la integridad de la membrana plasmática y morfología del espermatozoide como herramienta para determinar calidad seminal en el cerdo doméstico. Universidad del Zulia. Facultad de Agronomía y Ciencias Veterinarias, Post Grado en Producción Animal, Maracaibo, Venezuela. Disponible en http://tesis.luz.edu.ve/tde_arquivos/173/TDE-2013-06-27T09:30:04Z-3992/Publico/morales_navas_bitelio1.pdf.
57. MORALES, B., QUINTERO, C., OSORIO, J. Y RUBIO, G. 2012. Valoración de la biometría de la cabeza del espermatozoide mediante análisis computarizado en semen de cerdo recién colectado y refrigerado. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad del Zulia (LUZ). *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*. 2012, 29: 413-431. Disponible en http://revfacagronluz.org.ve/PDF/julio_septiembre2012/v29n3a2012413431.pdf.
58. MORTIMER S. 2000. CASA - Practical Aspects. *J. Androl.* 21:515-524.
59. MORTIMER, S. 1997. A critical review of the physiological importance and analysis of sperm movements in mammals. *Hum. Reprod. Update*, 3.

pp 403-409.

60. NÚÑEZ, I., MORAN, J., PEÑA, F. 2005. Do computer-assisted, morphometric derived sperm characteristics reflect DNA status in canine spermatozoa? *Reprod Domest Anim* 2005; 40. pp 537-543.

61. PEÑA, F., SARAVIA, F., GARCÍA, M., NÚÑEZ, I., TAPIA, J., JOHANNISSON, A., WALLGREN, M., RODRÍGUEZ, H. 2005. Identification of sperm morphometric subpopulations in two different portions of the boar ejaculate and its relation to postthaw quality. *J Androl* 2005;26. pp 716-723.

62. PRUNEDA, A., YEUNG, C., BONET, S., PINART, E. Y COOPER, T. 2007. Concentrations of carnitine, glutamate, myo-inositol and sorbitol in epididymal fluid and spermatozoa from boars: comparison of two different semen collection frequencies. *Animal Reproduction Science*, 97. pp 344-355.

63. QUINTERO, A., GONZÁLEZ, D., GARDE, J., ESTESO, M., FERNÁNDEZ, M., CARVALHO, J., MEJÍA, W. Y LEÓN, G. 2009. Valoración morfométrica de la cabeza del espermatozoide de cerdo doméstico según su edad. *Revista Científica, FCV-LUZ*. XIX (2). pp 153-158

64. RAMÍREZ, A., AGUILAR, S., CÓRDOVA, A., MÉNDEZ, M. 2000. Evaluación y producción de semen de cerdo Pelón mexicano. Departamento de Producción Agrícola y Animal. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. ale57@prodigy.net.mx.

65. RAMÍREZ, N. 2013. Manual de inseminación artificial en cerdas. Disponible en:
<http://cdigital.uv.mx/bitstream/123456789/32115/1/ramirezcamposnetzahualcoyotl.pdf>.

66. ROCA, J, PARRILLA I, RODRIGUEZ, H., GIL, M., CUELLO, C., VAZQUEZ, J., MARTÍNEZ, E. 2011. Approaches Towards Efficient Use of Boar

Semen in the Pig Industry. *Reprod. Dom. Anim.* 2011;46(2). pp 79-83.

67. ROCA, J., VÁZQUEZ, J., GIL, M., MARTÍNEZ, E. 2006. Challenges in pig artificial insemination. *Reproduction in Domestic Animal* 2006;42. pp 43-53.
68. ROCHA, G. 2005. Desarrollo de técnicas para mejorar la calidad de dosis de semen para la inseminación artificial porcina. Tesis. Doctor en Ciencias Pecuarias. Universidad de Colima, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Colima, MX. p 12. Disponible en: http://digeset.ucol.mx/tesis_posgrado/Pdf/Gonzalo_Rocha_Chavez.pdf.
69. RODRÍGUEZ, H. 2000. Evaluación de semen congelado: Métodos Tradicionales y de Actualidad. *International Veterinary Information Service* (<http://www.ivis.org>), Ithaca, New York, USA.
70. RODRÍGUEZ, H. 2012. Evaluación de la calidad seminal en el verraco. Facultad de Medicina Veterinaria y Ciencia Animal, Universidad Sueca de Ciencias Agrícolas (SLU), Uppsala, Suecia. Disponible en <http://www.avparagon.com/docs/reproduccion/ponencias/21.pdf>.
71. RUEDA, M., ARIAS, T., CABALLERO, N., TOSAR, M. Y ACOSTA, M. 2006. Análisis de la calidad espermática de sementales porcinos en dos tipos de porcicultura cubana. *Revista computarizada de producción porcina*, Vol. 13(1).
72. SÁNCHEZ, M. Y MARTÍNEZ, R. 2012. La Calidad en la Producción de Dosis de Semen II. CEIEPP FMVZ UNAM. Artículo publicado en *Los Porcicultores y su Entorno* Vol. No. 67. Disponible en <http://bmeditores.mx/la-calidad-en-la-produccion-de-dosis-de-semen-ii>.
73. TARDIFF, S., LAFOREST, J., CORMIER, N., BAILEY, J. 1999. The importance of porcine sperm parameters on fertility in vivo. *Theriogenology* 52. pp 447-459.

74. TEJERINA, F. 2007. Valoración mediante imágenes digitales del semen descongelado de verraco. Tesis de Doctorado. Facultad de Veterinaria, Universidad de León. León, España. Disponible en https://buleria.unileon.es/bitstream/handle/10612/1204/2007tejerina_amputia%2c_____fernando.pdf?sequence=1.
75. THURSTON, L., WATSON, P., MILEHAM, A., HOLT, W. 2001. Morphologically distinct sperm subpopulations defined by fourier shape descriptors in fresh ejaculates correlate with variation in boar semen quality following cryopreservation. J Androl 2001;22. pp 382-394.
76. TORRENTES, R., TORREZ, K., VANEGAS, D., LÓPEZ, J. Y GUEVARA, L. 2013. Manual de inseminación artificial porcina. Departamento de Veterinaria, Facultad de Ciencia Animal, Universidad Nacional Agraria. Managua, Nicaragua. Disponible en <http://cenida.una.edu.ni/Textos/NL10U58.pdf>.
77. VÁZQUEZ, J., MARTÍNEZ, E., PARRILLA, I. 2003. Birth of piglets after deep intrauterine insemination with flow cytometrically sorted boar spermatozoa. Theriogenology 2003;59. pp 1605-1614.
78. VELÁSQUEZ, C. 2013. Factores que influyen en la calidad y principales características seminales del verraco. Facultad de Ingeniería Agraria, Industrias Alimentarias y Ambiental, Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión. Huacho, Perú. Disponible en <http://190.116.38.24:8090/xmlui/bitstream/handle/123456789/153/velasquez-%20factores%20que%20influyen%20en%20la%20calidad%20%20seminal%20del%20verraco.pdf?sequence=1>.
79. VERA, O. 2001. Evaluación seminal comparativa pre y postcongelación en machos bovinos. Reproducción Bovina.. Edics. Astro Data S. A. Fundación GIRARZ. Maracaibo-Venezuela. Cap: XII. pp 1- 11.

80. VERSTEGEN, J., IGUER, M., ONCLIN, K. 2002. Computer assisted semen analyzers in andrology research and veterinary practise. *Theriogenology*, 57. pp 149-179.
81. VYT, P. 2007. Examination and storage of liquid porcine semen. Thesis to obtain the academic degree of Doctor of Veterinary Science (PhD). Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University.
82. WEITZE, K. 2000. Infertilidade estacional no suíno. En: III Simposio Internacional "Inseminação Artificial em Suínos". Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Brasil. Agosto. pp 50-55.
83. WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO 1999. Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Sperm-Cervical Mucus Interaction, 4th edn. Cambridge: Cambridge University Press.
84. YESTE, M., BRIZ, M., PINART, E., SANCHO, S., BUSSALLEU, E., BONET, S. 2010. The osmotic tolerance of boar spermatozoa and its usefulness as sperm quality parameter. *Animal Reproduction Science*, Vol. 119(3-4). pp 265-274.

ANEXOS

Anexo 1. Resultados experimentales de la valoración morfométrica de la cabeza y la longitud de cola de los espermatozoides de cerdos obtenidos en reflujos a diferentes tiempos y en varias secciones del aparato reproductor femenino, después de la inseminación artificial (cervical vs. post-cervical).

Estos resultados se adjuntan en el CD anexo a este documento, porque sobrepasan las 400 hojas.

Anexo 2. Análisis estadísticos de las características morfométricas de las cabezas de los espermatozoides de diferentes reproductores.

A. ESTADÍSTICAS DESCRIPTIVAS

		N	Media	Desv. típica	Error típico	Mínimo	Máximo
Longitud	Nº 3276	1036	9,2407	,32236	,01002	7,92	10,27
	Nº 3104	749	9,3018	,33999	,01242	8,28	12,78
	Nº 3237	900	9,0192	,33314	,01110	7,93	9,93
	Nº 3223	1151	9,1510	,36294	,01070	7,85	10,37
	Nº 3245	1655	8,5629	,45788	,01126	7,21	9,96
	Total	5491	8,9896	,47956	,00647	7,21	12,78
Ancho	Nº 3276	1036	4,3330	,17559	,00546	3,60	5,21
	Nº 3104	749	4,4194	,16018	,00585	3,80	5,46
	Nº 3237	900	4,4077	,13285	,00443	3,97	5,70
	Nº 3223	1151	4,5522	,14826	,00437	3,88	5,17
	Nº 3245	1655	3,9452	,19839	,00488	3,39	5,08
	Total	5491	4,2861	,28948	,00391	3,39	5,70
Área	Nº 3276	1036	34,3704	1,75651	,05457	27,32	39,08
	Nº 3104	749	35,1320	1,59627	,05833	29,93	45,52
	Nº 3237	900	33,8887	1,49022	,04967	29,30	45,37
	Nº 3223	1151	35,1997	1,69689	,05002	28,49	41,03
	Nº 3245	1655	29,1519	2,35068	,05778	22,68	37,62
	Total	5491	32,9963	3,18476	,04298	22,68	45,52
Perímetro	Nº 3276	1036	24,7841	,73060	,02270	21,84	27,53
	Nº 3104	749	25,0606	,74011	,02704	23,06	32,97
	Nº 3237	900	24,3097	,66071	,02202	22,48	28,08
	Nº 3223	1151	24,7559	,74162	,02186	21,52	27,14
	Nº 3245	1655	22,9451	1,02807	,02527	20,22	26,46
	Total	5491	24,1839	1,17772	,01589	20,22	32,97
Elipticidad	Nº 3276	1036	2,1363	,10555	,00328	1,58	2,74
	Nº 3104	749	2,1082	,10942	,00400	1,72	3,03
	Nº 3237	900	2,0487	,09558	,00319	1,67	2,40
	Nº 3223	1151	2,0129	,10185	,00300	1,65	2,63
	Nº 3245	1655	2,1741	,12685	,00312	1,49	2,61
	Total	5491	2,1037	,12715	,00172	1,49	3,03
Rugosidad	Nº 3276	1036	,7036	,02163	,00067	,57	,78
	Nº 3104	749	,7036	,02225	,00081	,45	,76
	Nº 3237	900	,7211	,01723	,00057	,67	,78
	Nº 3223	1151	,7223	,02100	,00062	,63	,79
	Nº 3245	1655	,6958	,02305	,00057	,61	,82
	Total	5491	,7080	,02405	,00032	,45	,82
Elongación	Nº 3276	1036	,3620	,02166	,00067	,23	,47
	Nº 3104	749	,3562	,02241	,00082	,26	,50
	Nº 3237	900	,3435	,02082	,00069	,25	,41
	Nº 3223	1151	,3356	,02237	,00066	,24	,45
	Nº 3245	1655	,3694	,02544	,00063	,20	,45
	Total	5491	,3549	,02645	,00036	,20	,50
Regularidad	Nº 3276	1036	,9155	,02088	,00065	,86	1,01
	Nº 3104	749	,9194	,02264	,00083	,85	1,09
	Nº 3237	900	,9216	,02008	,00067	,87	,99
	Nº 3223	1151	,9300	,02343	,00069	,86	1,03
	Nº 3245	1655	,9114	,02351	,00058	,83	1,00
	Total	5491	,9188	,02336	,00032	,83	1,09

B. ANÁLISIS DE VARIANZA

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Longitud	Tratam.	470,519	4	117,630	814,751	,000
	Error	792,042	5486	,144		
	Total	1262,561	5490			
Ancho	Tratam.	302,704	4	75,676	2638,413	,000
	Error	157,352	5486	,029		
	Total	460,056	5490			
Área	Tratam.	36136,842	4	9034,211	2535,571	,000
	Error	19546,552	5486	3,563		
	Total	55683,394	5490			
Perímetro	Tratam.	3879,454	4	969,864	1424,432	,000
	Error	3735,294	5486	,681		
	Total	7614,748	5490			
Elipticidad	Tratam.	21,518	4	5,380	438,901	,000
	Error	67,241	5486	,012		
	Total	88,759	5490			
Rugosidad	Tratam.	,668	4	,167	365,354	,000
	Error	2,507	5486	,000		
	Total	3,175	5490			
Elongación	Tratam.	,943	4	,236	446,416	,000
	Error	2,897	5486	,001		
	Total	3,840	5490			
Regularidad	Tratam.	,253	4	,063		
	Error	2,742	5486	,000		
	Total	2,995	5490			

C. CUADRO DE MEDIAS Y ASIGNACIÓN DE RANGOS DE ACUERDO A LA PRUEBA DE TUCKEY

Longitud						
Macho	N	Grupos homogéneos				
		1	2	3	4	5
Nº 3245	1655	8,5629				
Nº 3237	900		9,0192			
Nº 3223	1151			9,1510		
Nº 3276	1036				9,2407	
Nº 3104	749					9,3018

Ancho					
Macho	N	Grupos homogéneos			
		1	2	3	4
Nº 3245	1655	3,9452			
Nº 3276	1036		4,3330		
Nº 3237	900			4,4077	
Nº 3104	749			4,4194	
Nº 3223	1151				4,5522

Área					
Macho	N	Grupos homogéneos			
		1	2	3	4
Nº 3245	1655	29,1519			
Nº 3237	900		33,8887		
Nº 3276	1036			34,3704	
Nº 3104	749				35,1320
Nº 3223	1151				35,1997

Perímetro					
Macho	N	Grupos homogéneos			
		1	2	3	4
Nº 3245	1655	22,9451			
Nº 3237	900		24,3097		
Nº 3223	1151			24,7559	
Nº 3276	1036			24,7841	
Nº 3104	749				25,0606

Elipticidad						
Macho	N	Grupos homogéneos				
		1	2	3	4	5
Nº 3223	1151	2,0129				
Nº 3237	900		2,0487			
Nº 3104	749			2,1082		
Nº 3276	1036				2,1363	
Nº 3245	1655					2,1741

Rugosidad				
Macho	N	Grupos homogéneos		
		1	2	3
Nº 3245	1655	,6958		
Nº 3276	1036		,7036	
Nº 3104	749		,7036	
Nº 3237	900			,7211
Nº 3223	1151			,7223

Elongación					
Macho	N	Grupos homogéneos			
		1	2	3	4
Nº 3223	1151	,3356			
Nº 3237	900		,3435		
Nº 3104	749			,3562	
Nº 3276	1036				,3620
Nº 3245	1655				,3694

Regularidad				
Macho	N	Grupos homogéneos		
		1	2	3
Nº 3245	1655	,9114		
Nº 3276	1036		,9155	

Nº 3104	749	,9194	
Nº 3237	900	,9216	
Nº 3223	1151		,9300
<hr/>			

Anexo 3. Análisis estadísticos de las características morfométricas de las cabezas de los espermatozoides obtenidos en reflujos a diferentes tiempos, por efecto del tipo de inseminación artificial.

A. ESTADÍSTICAS DESCRIPTIVAS

		N	Media	Desv. típica	Error típico	Mínimo	Máximo
Longitud	Post-cervical	3206	9,0549	,48107	,00850	7,27	12,78
	Cervical	2285	8,8980	,46223	,00967	7,21	10,24
	Total	5491	8,9896	,47956	,00647	7,21	12,78
Ancho	Post-cervical	3206	4,3001	,28151	,00497	3,39	5,46
	Cervical	2285	4,2664	,29927	,00626	3,43	5,70
	Total	5491	4,2861	,28948	,00391	3,39	5,70
Área	Post-cervical	3206	33,3299	3,18492	,05625	22,68	45,52
	Cervical	2285	32,5283	3,12576	,06539	23,35	45,37
	Total	5491	32,9963	3,18476	,04298	22,68	45,52
Perímetro	Post-cervical	3206	24,3316	1,20462	,02127	20,33	32,97
	Cervical	2285	23,9766	1,10637	,02315	20,22	28,08
	Total	5491	24,1839	1,17772	,01589	20,22	32,97
Elipticidad	Post-cervical	3206	2,1115	,12375	,00219	1,58	3,03
	Cervical	2285	2,0926	,13101	,00274	1,49	2,61
	Total	5491	2,1037	,12715	,00172	1,49	3,03
Rugosidad	Post-cervical	3206	,7066	,02387	,00042	,45	,78
	Cervical	2285	,7100	,02417	,00051	,61	,82
	Total	5491	,7080	,02405	,00032	,45	,82
Elongación	Post-cervical	3206	,3566	,02556	,00045	,23	,50
	Cervical	2285	,3524	,02747	,00057	,20	,45
	Total	5491	,3549	,02645	,00036	,20	,50
Regularidad	Post-cervical	3206	,9193	,02286	,00040	,85	1,09
	Cervical	2285	,9181	,02402	,00050	,83	1,03
	Total	5491	,9188	,02336	,00032	,83	1,09

B. ANÁLISIS DE VARIANZA

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig,
Longitud	Tratam.	32,831	1	32,831	146,546	,000
	Error	1229,729	5489	,224		
	Total	1262,561	5490			
Ancho	Tratam.	1,510	1	1,510	18,077	,000
	Error	458,546	5489	,084		
	Total	460,056	5490			
Área	Tratam.	857,190	1	857,190	85,819	,000
	Error	54826,204	5489	9,988		
	Total	55683,394	5490			
Perímetro	Tratam.	168,183	1	168,183	123,971	,000
	Error	7446,565	5489	1,357		
	Total	7614,748	5490			
Elipticidad	Tratam.	,478	1	,478	29,727	,000
	Error	88,281	5489	,016		
	Total	88,759	5490			
Rugosidad	Tratam.	,015	1	,015	26,122	,000

	Error	3,160	5489	,001		
	Total	3,175	5490			
Elongación	Tratam.	,023	1	,023	33,443	,000
	Error	3,817	5489	,001		
	Total	3,840	5490			
Regularidad	Tratam.	,002	1	,002	3,418	,065
	Error	2,993	5489	,001		
	Total	2,995	5490			

Anexo 4. Análisis estadísticos de las características morfométricas de las cabezas de los espermatozoides obtenidos en reflujos a diferentes tiempos después de la inseminación artificial (cervical vs. post-cervical).

R1: Dosis original

R0-15: Reflujo 0 - 15 min

R16-30: Reflujo 16 - 30 min

R31-60: Reflujo 31 a 60 min

A. ESTADÍSTICAS DESCRIPTIVAS

		N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
Longitud	R1	782	9,1823	,36663	,01311	7,86	10,40
	R0-15	1200	9,0043	,47936	,01384	7,31	10,26
	R16-30	1859	8,9941	,45778	,01062	7,21	10,27
	R31-60	2432	8,9790	,49560	,01005	7,35	12,78
	Total	6273	9,0136	,47126	,00595	7,21	12,78
Ancho	R1	782	4,4186	,19374	,00693	3,76	5,04
	R0-15	1200	4,3283	,29459	,00850	3,51	5,17
	R16-30	1859	4,2778	,28088	,00651	3,43	5,46
	R31-60	2432	4,2716	,29155	,00591	3,39	5,70
	Total	6273	4,3026	,28274	,00357	3,39	5,70
Área	R1	782	34,5270	1,99847	,07147	26,60	39,45
	R0-15	1200	33,2682	3,12760	,09029	23,35	40,37
	R16-30	1859	32,9941	3,05789	,07092	23,93	45,52
	R31-60	2432	32,8639	3,29853	,06689	22,68	45,37
	Total	6273	33,1871	3,10341	,03918	22,68	45,52
Perímetro	R1	782	24,6530	,74342	,02658	21,60	26,73
	R0-15	1200	24,2884	1,14710	,03311	20,39	27,53
	R16-30	1859	24,1906	1,11798	,02593	20,22	27,80
	R31-60	2432	24,1272	1,23266	,02500	20,37	32,97
	Total	6273	24,2424	1,14321	,01443	20,22	32,97
Elipticidad	R1	782	2,0819	,11171	,00399	1,75	2,49
	R0-15	1200	2,0868	,12809	,00370	1,58	2,51
	R16-30	1859	2,1088	,12811	,00297	1,67	2,74
	R31-60	2432	2,1081	,12528	,00254	1,49	3,03
	Total	6273	2,1010	,12553	,00158	1,49	3,03
Rugosidad	R1	782	,7141	,02100	,00075	,64	,77
	R0-15	1200	,7078	,02597	,00075	,61	,79
	R16-30	1859	,7077	,02463	,00057	,56	,79
	R31-60	2432	,7084	,02257	,00046	,45	,82
	Total	6273	,7088	,02377	,00030	,45	,82
Elongación	R1	782	,3506	,02366	,00085	,27	,43
	R0-15	1200	,3513	,02694	,00078	,23	,43
	R16-30	1859	,3559	,02651	,00061	,25	,47
	R31-60	2432	,3558	,02601	,00053	,20	,50
	Total	6273	,3543	,02615	,00033	,20	,50
Regularidad	R1	782	,9234	,02100	,00075	,86	1,00
	R0-15	1200	,9216	,02448	,00071	,85	1,03
	R16-30	1859	,9174	,02275	,00053	,83	,99
	R31-60	2432	,9186	,02314	,00047	,85	1,09
	Total	6273	,9194	,02312	,00029	,83	1,09

B. ANÁLISIS DE VARIANZA

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig,
Longitud	Tratam.	25,969	3	8,656	39,698	,000
	Error	1366,969	6269	,218		
	Total	1392,938	6272			
Ancho	Tratam.	14,795	3	4,932	63,537	,000
	Error	486,593	6269	,078		
	Total	501,388	6272			
Área	Tratam.	1735,113	3	578,371	61,799	,000
	Error	58671,293	6269	9,359		
	Total	60406,407	6272			
Perímetro	Tratam.	171,633	3	57,211	44,690	,000
	Error	8025,385	6269	1,280		
	Total	8197,017	6272			
Elipticidad	Tratam.	,759	3	,253	16,175	,000
	Error	98,068	6269	,016		
	Total	98,828	6272			
Rugosidad	Tratam.	,025	3	,008	15,060	,000
	Error	3,519	6269	,001		
	Total	3,544	6272			
Elongación	Tratam.	,032	3	,011	15,594	,000
	Error	4,258	6269	,001		
	Total	4,290	6272			
Regularidad	Tratam.	,028	3	,009	17,302	,000
	Error	3,326	6269	,001		
	Total	3,353	6272			

C. CUADRO DE MEDIAS Y ASIGNACIÓN DE RANGOS DE ACUERDO A LA PRUEBA DE TUCKEY

Longitud			
Tratamientos	N	Grupos homogéneos	
		1	2
Reflujo 31 a 60 min	2432	8,9790	
Reflujo 16 - 30 min	1859	8,9941	
Reflujo 0 - 15 min	1200	9,0043	
Dosis original	782		9,1823

		Ancho		
Tratamientos	N	Grupos homogéneos		
		1	2	3
Reflujo 31 a 60 min	2432	4,2716		
Reflujo 16 - 30 min	1859	4,2778		
Reflujo 0 - 15 min	1200		4,3283	
Dosis original	782			4,4186

		Área		
Tratamientos	N	Grupos homogéneos		
		1	2	3
Reflujo 31 a 60 min	2432	32,8639		
Reflujo 16 - 30 min	1859	32,9941	32,9941	

Reflujo 0 - 15 min	1200	33,2682	
Dosis original	782		34,5270

Perímetro

Tratamientos	N	Grupos homogéneos		
		1	2	3
Reflujo 31 a 60 min	2432	24,1272		
Reflujo 16 - 30 min	1859	24,1906	24,1906	
Reflujo 0 - 15 min	1200		24,2884	
Dosis original	782			24,6530

Elipticidad

Tratamientos	N	Grupos homogéneos	
		1	2
Dosis original	782	2,0819	
Reflujo 0 - 15 min	1200	2,0868	
Reflujo 31 a 60 min	2432		2,1081
Reflujo 16 - 30 min	1859		2,1088

Rugosidad

Tratamientos	N	Grupos homogéneos	
		1	2
Reflujo 16 - 30 min	1859	,7077	
Reflujo 0 - 15 min	1200	,7078	
Reflujo 31 a 60 min	2432	,7084	
Dosis original	782		,7141

Elongación

Tratamientos	N	Grupos homogéneos	
		1	2
Dosis original	782	,3506	
Reflujo 0 - 15 min	1200	,3513	
Reflujo 31 a 60 min	2432		,3558
Reflujo 16 - 30 min	1859		,3559

Regularidad

Tratamientos	N	Grupos homogéneos	
		1	2
Reflujo 16 - 30 min	1859	,9174	
Reflujo 31 a 60 min	2432	,9186	
Reflujo 0 - 15 min	1200		,9216
Dosis original	782		,9234

Anexo 5. Análisis estadísticos de la longitud de la cola de los espermatozoides obtenidos en reflujos a diferentes tiempos y en varias secciones del aparato reproductor femenino, después de la inseminación artificial (cervical vs. post-cervical).

A. DE ACUERDO AL REPRODUCTOR

1. Estadísticas descriptivas

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
Nº 3276	810	45,8723	1,40973	,04953	42,00	49,60
Nº 3104	525	46,2687	1,26225	,05509	42,31	49,42
Nº 3237	862	45,8241	1,53237	,05219	29,22	50,67
Nº 3223	1084	46,7809	1,35469	,04115	38,89	50,91
Nº 3245	1983	45,6264	1,39677	,03137	29,91	50,77
Total	5264	45,9984	1,46751	,02023	29,22	50,91

2. Análisis de varianza

FV	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig,
Tratam.	1015,553	4	253,888	129,396	,000
Error	10318,726	5259	1,962		
Total	11334,279	5263			

3. Cuadro de medias y asignación de rangos de acuerdo a la prueba de Tuckey

Macho	N	Grupos homogéneos			
		1	2	3	4
Nº 3245	1983	45,6264			
Nº 3237	862		45,8241		
Nº 3276	810		45,8723		
Nº 3104	525			46,2687	
Nº 3223	1084				46,7809

B. DE ACUERDO AL TIPO DE INSEMINACIÓN

1. Estadísticas descriptivas

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
Post-cervical	2883	46,0588	1,40418	,02615	29,22	50,91
Cervical	2381	45,9253	1,53784	,03152	29,44	50,77
Total	5264	45,9984	1,46751	,02023	29,22	50,91

2. Análisis de varianza

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig,
Tratam.	23,224	1	23,224	10,804	,001
Error	11311,056	5262	2,150		
Total	11334,279	5263			

C. DE ACUERDO A LOS TRATAMIENTOS

1. Estadísticas descriptivas

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Mínimo	Máximo
Dosis original	1119	46,8373	1,18108	,03531	39,75	50,08
Reflujo 0 - 15 min	1330	46,4120	1,50356	,04123	29,44	50,91
Reflujo 16 - 30 min	1981	46,0187	1,33094	,02990	39,49	50,67
Reflujo 31 a 60 min	2623	45,8309	1,46273	,02856	29,22	50,16
Lavado oviducto	744	46,2161	1,54156	,05652	36,14	52,31
Lavado uterino	25	45,6476	1,25500	,25100	42,86	47,97
Lavado útero-tubárica	176	45,8691	1,22986	,09270	42,78	48,62
Total	7998	46,1510	1,44484	,01616	29,22	52,31

2. Análisis de varianza

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig,
Tratam.	944,650	6	157,442	79,883	,000
Error	15749,537	7991	1,971		
Total	16694,187	7997			

3. Cuadro de medias y asignación de rangos de acuerdo a la prueba de Tuckey

Tratamientos	N	Grupos homogéneos			
		1	2	3	4
Lavado uterino	25	45,6476			
Reflujo 31 a 60 min	2623	45,8309	45,8309		
Lavado útero-tubárica	176	45,8691	45,8691		
Reflujo 16 - 30 min	1981	46,0187	46,0187	46,0187	
Lavado oviducto	744		46,2161	46,2161	
Reflujo 0 - 15 min	1330			46,4120	46,4120
Dosis original	1119				46,8373